



Contribution à la synthèse totale de la céphalotaxine

Rana Alsalim

► To cite this version:

Rana Alsalim. Contribution à la synthèse totale de la céphalotaxine. Autre. Université Paris Sud - Paris XI, 2013. Français. NNT : 2013PA114811 . tel-01139235

HAL Id: tel-01139235

<https://theses.hal.science/tel-01139235>

Submitted on 3 Apr 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

ECOLE DOCTORALE :

INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL A L'APPLIQUÉ

PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

DISCIPLINE :

Chimie Organique

ANNÉE 2012 - 2013

SÉRIE DOCTORAT N° 1221

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue le 29/03/2013

Par

Rana ALSALIM

Contribution à la synthèse totale de la céphalotaxine

Directrice de thèse :

Françoise DUMAS

Directrice de Recherche CNRS

Composition du jury :

Présidente du jury : Pr. Arlette BAILLET-GUFFROY

Rapporteure: Dr. Isabelle CHATAIGNER

Maître de conférences

Université de Rouen et IRCOF

Rapporteure: Dr. Joëlle PERARD-VIRET

CR au CNRS

Université Paris Descartes

Examinatrice : Pr. Arlette BAILLET-GUFFROY

Professeure

Université Paris Sud

Examinatrice : Dr. Catherine GUILLOU

DR au CNRS

ICSN, CNRS, Gif sur Yvette

Examinatrice : Dr. Christine THOMASSIGNY

Maître de conférences

Université de Versailles St-Quentin

Examinatrice : Dr. Françoise DUMAS

DR au CNRS

Université Paris Sud

" عقول الناس، مثل المشكاوات، بينها ما هو قوي وما هو ضعيف، وما هو بين بين، وعلم الكيمياء لا يقدر على حمله سوى القوي المتين، ومن يملك حباً للعلم، يصبح العلم عنده حرماً مقدساً".
جابر بن حيان

«Nos esprits sont tels des lampes qui nous illuminent.

Il y a celles qui sont fortes, celles qui sont si faibles, et d'autres bien moyennes.

Mais la chimie ne peut être portée que par les premières: fortes et solides.

Et pour celui qui vibre par l'amour du savoir, le monde devient pour lui un sanctuaire sacré».

Jabir Ibn Hayyan (*Le Moyen Âge*)



«La Terre, 310 millions Km²même si je parcours 150 Km² à chaque heure qu'il me reste à vivre, je n'en verrai pas la moitié..... Mais je compte bien en voir le maximum».

«A mon père Ali, A ma mère Maria, A mon frère Fadi et sa famille qui m'ont toujours aidé, soutenu et encouragé tout au long de mes études».



Dr Joëlle Pérard-Viret de l'Université de Paris Descartes et Dr Isabelle Chataigner de l'Université de Rouen je vous remercie pour avoir accepté d'être rapporteuses de ce travail, et je vous suis reconnaissante ainsi que les Pr Arlette Baillett-Guffroy de l'Université Paris Sud, Dr Catherine guillou de l'Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif sur Yvette, et Dr Christine Thomassigny de l'Université de Versailles Saint-Quentin, d'avoir accepté de lire et de juger cette thèse malgré une charge de travail déjà importante.

A toutes, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Dr Françoise DUMAS, DR au CNRS et directrice de ma thèse

Je te remercie sincèrement de m'avoir confié ce projet et de l'avoir supervisé d'une manière exceptionnelle. Merci d'avoir cru en moi, de m'avoir constamment encouragé et d'avoir été toujours disponible. J'ai beaucoup appris durant ces trois années à tes côtés, de ta rigueur scientifique, ton organisation, ton enthousiasme et ton honnêteté. Tu as rempli ta mission avec excellence et humanité. Je te remercie de m'avoir compris dans les moments difficiles, de m'avoir écouté et soutenu... Encore, un merci tout particulier pour ton aide précieuse et ton efficacité dans le travail au quotidien et pour avoir pris le temps de relire ce manuscrit. Mais merci également de ta gentillesse, de ta franchise, de ton énergie, et des nombreux moments partagés en dehors.... un vrai réconfort tout au long de cette rédaction.

Dr Bruno FIGADÈRE, DR au CNRS et directeur du Laboratoire BioCIS.

Je vous remercie, pour m'avoir donné l'opportunité de rejoindre l'équipe, Chimie des Substances Naturelles.

Mon Pays la Syrie

Je remercie la Syrie, et surtout mon institut l'ISSAT pour avoir financé l'ensemble de cette thèse et aussi mes études supérieures en France.

Pr Delphine JOSEPH, Pr à l'Université Paris Sud

Je te remercie du fond du cœur pour la cordialité et la sympathie à mon égard en chaque moment.

Dr Emmanuelle, Dr Sandrine, Dr Frank et Dr Zac

Merci beaucoup pour les nombreux coups de main que vous m'avez apportés et les franches parties de rigolades au sein du laboratoire, merci pour tout ce que vous apportez au laboratoire, votre professionnalisme et votre expérience et expertise scientifique.

Laith

*Je te remercie pour m'avoir accompagné pendant 3 ans, encore Je te remercie très chaleureusement pour tous les bons moments partagés, au labo vert et orange aussi, ou à l'extérieur pendant ces années, je te souhaite **bonne chance pour la soutenance de ta thèse.***

Mon compatriote Mohammad, Nesrine, Malek, Noémie, Pierre-Étienne, Li et Hamza

Merci. Vous avez tous été bien plus que de simples collègues, et si mes relations avec certains d'entre vous furent, parfois, un peu trop intenses, elles furent aussi et surtout, toujours, enrichissantes. Je remercie en particulier Nesrine dont la bonne humeur sans faille me manque, et je te souhaite également bonne chance pour la soutenance de ta thèse.

Malek et Emilie, Merci pour la patience et la volonté de bien faire, j'ai eu le plaisir à vous guider en chimie.

Merci à tous et toutes, membres du laboratoire BioCIS de la faculté de pharmacie, ceux d'aujourd'hui et ceux qui sont partis vers de nouvelles aventures, et qui m'ont apporté une aide technique tout au long de ces années.

Mes amis

De manière plus personnelle, j'aimerais à présent remercier très vivement mes amis les plus chers pour leur présence le jour de ma soutenance, qui m'a énormément touchée, et pour leur présence (inestimable) dans ma vie en général. Une mention très spéciale à mes chers compatriotes (Mayssoun IDE, Ayat ABBOOD et Iyad HASSAN), pour avoir patiemment écouté toutes mes lab stories... et n'oublié pas à remercier aussi mes compatriotes (Nicolas, Spiro, Samar, Gaith), Mathieu, et spécialement mes chers amis Samira et Sami pour leur gentillesse, leur soutien et aussi la confiance qu'ils m'ont accordée.

Ma famille

Je remercie du fond du cœur, et ne remercierai jamais assez, mes parents mon père et ma mère sans votre aide et vos encouragements, je ne serai sûrement pas arrivée jusque-là.

Je pense très fort à mes proches, à mon frère Fadi, sa femme Maha et leur enfants Ali, Hassan et Mohammad qui m'accompagnent à chaque instant et qui j'espère sont fiers de moi...

Mon amour

Qui est toujours avec moi en chaque moment, merci d'être présent dans ma vie, merci pour ton soutien inestimable notre cohabitation fut très conviviale et j'en garderai toujours un excellent souvenir,.....Merci Merci Merci !!!

Je vous souhaite à tous et à toutes beaucoup de bonheur, tant d'un point de vue professionnel que personnel.

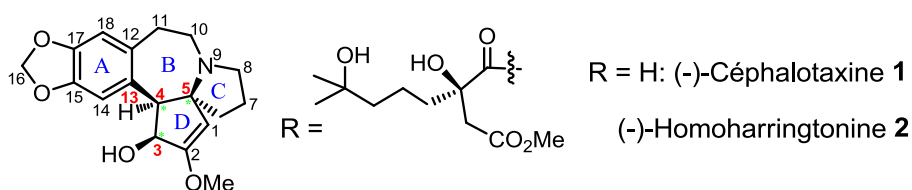
Il y a des rencontres qu'on n'oublie pas.



Rana Ali ALSALIM

Objectif du travail

Depuis plus de 40 ans des chimistes se sont intéressés à l'extraction, à l'activité biologique et à la synthèse de l'homoharringtonine **2**, un ester de la céphalotaxine **1**, qui est un puissant antileucémique, en vue de son utilisation thérapeutique, en particulier contre les leucémies résistantes aux inhibiteurs de tyrosine kinase. Ces alcaloïdes sont extraits de *Cephalotaxus*, des conifères originaires du sud de la Chine à croissance extrêmement lente, et en voie d'extinction. Leur synthèse est nécessaire pour une future utilisation thérapeutique.



L'objectif de ce travail consiste à développer une synthèse concise de la céphalotaxine **1**. La stratégie développée ici nécessite d'effectuer un couplage de Heck avec des substrats désactivés et encombrés. Les résultats préliminaires ayant été décevants, le premier objectif a consisté à développer l'utilisation de la méthode des plans d'expérience en synthèse totale, car l'efficacité de chaque étape a une répercussion importante sur le rendement en produit final. Dans une première partie, l'application d'un plan d'expérience a permis de pallier ce problème sur une réaction modèle, pour l'effectuer efficacement et pour déterminer les paramètres importants de la réaction, dans des conditions éco-compatibles.

Dans une deuxième partie, nous avons synthétisé les précurseurs et réalisé le couplage de Heck en vue de l'accès à un précurseur AC comportant tous les atomes de carbone du squelette de la céphalotaxine et les fonctionnalités requises pour sa cyclisation ultérieure en tétracycle ABCD.

Enfin, nous avons tenté de fonctionnaliser les produits issus du couplage de Heck avec le méthylvinylcétone en position C3 par différents méthodes.

Avant de développer ces résultats, nous présentons une étude bibliographique concernant les alcaloïdes de *Cephalotaxus*, puis nous exposons les synthèses totales de la céphalotaxine **1** publiées à ce jour.

Glossaire

Ac	Acétyle
AcOEt	Acétate d'éthyle
AcOH	Acide acétique
AIBN	azobisisobutyronitrile
APCI	Ionisation Chimique à Pression Atmosphérique
APP	acide polyphosphorique
APTS	acide paratoluènesulfonique
ARN	acide ribonucléique
ARN-t	acides ribonucléiques de transfert
ARNm	acide ribonucléique messenger
aqu.	aqueuse
BHE	barrière hémato-encéphalique
BHT	butylhydroxytoluène
BishomodéoxyH T	bishomodéoxy-harringtonine
Boc	tert-butoxycarbonyl
bmim	1 buthyl-3-méthylimidazolium
C_{24:0}	acide tetracosanoïque
cat.	catalytique
CET	Céphalotaxine
CHIKV	virus du chikungunya
CTA	Céphalotaxinamide
CL	chaîne latérale
CC	Colonne Chromatographique
CDI	carbonylediimidazole
CCM	chromatographie sur Couche Mince
CI₅₀	Concentration Inhibitrice médiane
CLHP	Chromatographie Liquide Haute Performance
CNT	Nanotube de carbone (Carbon nanotube)
CSE	extraction conventionnelle par des solvants
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undéc-7-ène
DC	dichroïsme circulaire
DCC	chromatographie de Distribution à Contre Courant
DCM	dichlorométhane
DEPC	pyrocarbonate d'éthyle
DEAD	diéthyl azodicarboxylate
DéoxyHT	déoxyharringtonine
DéméthylCET	déméthylcéphalotaxine
DIBAH	hydrure de diisobutylaluminium
DesméthylCET	desméthylecéphalotaxine
DMA	diméthylamine
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMDO	Diméthylidioxirane
DMF	N,N-diméthylformamide
dppf	1,1'-bis(diphénylphosphino)ferrocène

dppe	1,2-bis(diphénylphosphino)éthane
DPPP	1,3-Bis(diphenylphosphino)propane
DS	Drug substance
Db	Dibenzylidèneacétone
Eb	Point d'ébullition
EDCI	N-(3-diméthylaminopropyl)-3-éthylcarbodiimide
ESI	Ionisation électrospray (ElectroSpray Ionisation)
éq. ou équiv.	équivalent
F	point de fusion
g	gramme
GEA	groupement électro-attracteur
GED	groupement électro-donneur
GC	chromatographie en phase gazeuse
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Gas chromatography–mass spectrometry)
GISTs	tumeurs stromales gastro-intestinales
Grubbs I	dichlorure de bis(tricyclohexylphosphine)-benzylidèneruthénium(IV)
HT	Harringtonine
HHT	Homoharringtonine
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HMDS	Hexaméthylidisilazane
HOBt	Hydroxybenzotriazole
HomodéoxyHT	Homodéoxyharringtonine
HomonéoHT	Homonéoharringtonine
HPLC	Chromatographie liquide haute performance
HPLC-PI	Chromatographie liquide haute performance à phase inverse
HRMS	High Resolution Mass Spectroscopy
HSCCC	Chromatographie rapide à contre courant
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Corrélation
IBX	Acide iodoxybenzoïque
IL	Interleukines
ImH	Imidazole
IPP	Isopentényl-pyrophosphate
IR	Index de résistance
IS	Sélectivité
isoHT	isoharringtonine
J	constante de couplage
KB	carcinome épidermoïde humain
KHMDS	hexaméthylidisilazidure de potassium
LAH	hydrure de lithium et d'aluminium
LC/MS	chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse
LC/MS-MS	chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem
LAL	<i>leucémie</i> aiguë lymphoblastique
LDA	diisopropylamidure de lithium (Lithium diisopropylamide)
LHMDS	hexaméthylidisilazamidure du lithium
LMA	leucémie myéloïde aiguë
LMC	leucémie myéloïde chronique
L1210	lymphome murin
LOQ	limite de quantification (limite of quantification)

MAE	extraction assisté au micro-onde
M	Molarité
MDR	résistance multiple aux drogues
MHz	mégaHertz
MHR	spectroscopie de <i>masse</i> à <i>haute résolution</i>
MLC	Concentration Léthale minimum (Minimum Lethal Concentration)
m/z	rapport masse sur charge
MS	spectrométrie de masse
MS-MS	spectrométrie de masse électro-spray
MO	Micro-onde
MVC	Méthyl vinyl cétone
NBS	N-bromosuccinimide
NCI	Institut National contre le Cancer aux(Etats-Unis)
ND	non détecté
NIS	N-iodosuccinimide
NordéoxyHT	Nordéoxyharringtonine
nOe	effet Oberhauser nucléaire
Nu-	Nucléophile
ODS	octadécyl-silane
P388	leucémie murine
(Pd_{np})-A/FSG	Pd perfluoro-tagged palladium nanoparticles immobilised on fluorosilica gel
Pd@SPB:	Palladium nanoparticles immobilized on spherical polyelectrolyte brushes
PBS	Tampon phosphate salin
PCC	Chlorochromate de pyridinium
PEG	Polyéthylène glycol
PIDA	Diacétoxyiodobenzène
PLE	Porcine lipase
PPA	Polyamide aromatiques ou aramides (polyamides semi-aromatiques semi-cristallins)
PPL	lipase pancréatique de porc
ppm	partie par million
psi	pound per square inch
pyr.	pyridine
rd	ratio diastéréoisomérique
Rdt	rendement
Rf	Rapport frontal
RG	Rendement global
ROS	espèces réactives de l'oxygène (Reactive Oxygen Species)
RMN	résonance magnétique nucléaire
RMN 1D, 2D	RMN à 1 dimension et à 2 dimensions
RV	résistante à la vincristine
RX	rayons X
SCF	stem cell factor
SI	standard interne
SM	mastocytose systémique
3'S-OHnéoHT	3'S-hydroxyneoharringtonine
ssHHT	Hémisynthèse de HHT
Ta	Temperature ambient

TBAB	Tetra-n-butylammonium bromide
TBAF	Tetra-n-butylammonium fluoride
TBAI	Tetrabutylammonium iodide
TBDMSOTf	trifluorométhane sulfonate de tert-butyldiméthylsilyle
TBAT	tétrabutylammonium difluoro triphényle silicate
TFA	acide trifluoroacétique
TFAA	anhydride trifluoracétique
TTMPP	tris(2,4,6triméthoxyphényl)phosphine
TMG	tetraméthyl guanidine
TMSO	tétraméthylènesulfoxyde
TMS	triméthyle silyle
TNF	Facteur Nécrosant de tumeurs (Tumor Necrosis Factor)
Tr	Temps de rétention
UV	Ultraviolet
v/v	Volume/volume
W	watt

SOMMAIRE

A. INTRODUCTION..... - 17 -

I. Les alcaloïdes de Cephalotaxus - 17 -

1)	Généralités	- 17 -
2)	Isolement des alcaloïdes de type <i>Cephalotaxus</i>	- 20 -
a)	Isolement de la céphalotaxine	- 20 -
b)	Isolement des esters de la céphalotaxine	- 21 -
c)	Alcaloïdes apparentés à la céphalotaxine	- 28 -
d)	Esters apparentés aux harringtonines	- 31 -
e)	Les dimères du genre <i>Cephalotaxus</i>	- 32 -
3)	Alcaloïdes de type homoérythrina.....	- 34 -
4)	Structure des alcaloïdes de type <i>Cephalotaxus</i>	- 36 -
a)	Structure de la céphalotaxine.....	- 36 -
b)	Biogénèse des alcaloïdes de type cephalotaxus	- 39 -
c)	Structure des esters naturels de la céphalotaxine	- 42 -
5)	Purification et analyse de la céphalotaxine et de ses esters	- 44 -
a)	Analyse chromatographique, purification et stabilité de la céphalotaxine	- 45 -
b)	Analyse chromatographique et stabilité de l'HHT	- 46 -
c)	Extraction et purification de l'HHT	- 50 -
6)	Activité biologique des alcaloïdes de type <i>Cephalotaxus</i>	- 56 -
a)	Relations structure-activité	- 56 -
b)	Mécanisme d'action	- 68 -
c)	Études pré-cliniques	- 74 -
c1)	Études <i>in vitro</i> sur des cellules leucémiques	- 74 -
c2)	Études <i>in vivo</i> sur des tumeurs expérimentales	- 74 -
c3)	Effets sur d'autres lignées cancéreuses	- 74 -
c4)	Résistances	- 75 -
c5)	Combinaisons avec d'autres substances anticancéreuses	- 75 -
d)	Toxicologie et pharmacocinétique	- 75 -
e)	Études cliniques	- 75 -
e1)	Essais en Chine.....	- 76 -
e2)	Essais cliniques de phase I.....	- 77 -
e3)	Essais cliniques de phase II et III.....	- 78 -
e4)	Combinaisons avec d'autres substances anticancéreuses	- 78 -
7)	Perspectives.....	- 79 -

II. Synthèses de la Céphalotaxine..... - 81 -

1)	Généralités	- 81 -
2)	Synthèses utilisant la déconnexion C ₄ -C ₁₃ dans la formation du cycle B	- 84 -
a)	Synthèse de Weinreb	- 84 -
a1)	Synthèse formelle de Dolby.....	- 85 -

a2)	Synthèse formelle de Weinstein.....	- 86 -
a3)	Synthèse formelle de Snieckus	- 86 -
a4)	Synthèse formelle de Danishefsky.....	- 87 -
a5)	Synthèse formelle de Li.....	- 88 -
b)	Synthèse de Semmelhack	- 88 -
c)	Synthèse de Hanaoka	- 90 -
d)	Synthèse de Kuehne	- 91 -
e)	Synthèse de Tietze	- 92 -
f)	Synthèse de Suga et Yoshida.....	- 94 -
g)	Synthèse de Stoltz	- 95 -
h)	Synthèse de Li.....	- 96 -
i)	Synthèse de Yang et Liu.....	- 97 -
j)	Synthèse de Bubnov	- 98 -
3)	Synthèses utilisant la déconnexion N ₉ -C ₅ dans la formation du cycle B	- 99 -
a)	Synthèse de Fuchs	- 99 -
a)	Synthèse de Mariano	- 101 -
b)	Synthèse de Li par cyclisation d'oxy-Nazarov réductrice.....	- 103 -
4)	Autres stratégies de formation du cycle B	- 104 -
a)	Synthèse d'Ikeda	- 104 -
b)	Synthèse formelle de Nagasaka	- 106 -
c)	Synthèses de Li par réarrangement réductif	- 107 -
d)	Synthèse de Tu et Zhang	- 110 -
5)	Synthèses asymétriques de la céphalotaxine	- 111 -
a)	Dédoublement de la céphalotaxine selon Weinreb	- 113 -
b)	Synthèse et dédoublement de Zhong.....	- 113 -
c)	Synthèse et dédoublement de El Bialy	- 114 -
d)	Synthèse énantiosélective de Mori.....	- 115 -
e)	Synthèse énantiosélective d'Ikeda	- 118 -
f)	Synthèses de Hayes	- 119 -
g)	Synthèse énantiosélective de Tietze.....	- 121 -
h)	Synthèse de Gin 2008.....	- 122 -
i)	Synthèse d'Ishibashi.....	- 125 -
j)	Synthèse asymétrique de Nagasaka	- 126 -
k)	Synthèse énantiosélective de Royer	- 127 -
l)	Synthèse formelle de Dumas et d'Angelo	- 128 -
m)	Synthèses de Mariano.....	- 130 -
n)	Synthèse de Stoltz	- 133 -
o)	Deuxième synthèse de Hayes	- 135 -
p)	Synthèse de Tu.....	- 137 -
q)	Synthèse de Renaud	- 138 -
6)	Conclusion	- 141 -
B	DESCRIPTION DES TRAVAUX.....	- 143 -
I.	Introduction.....	- 143 -
1)	Objectifs.....	- 143 -
2)	Résultats acquis: Synthèse du motif pyrrolobenzazépine ABC.....	- 144 -
3)	Stratégie de synthèse	- 145 -

II. Contexte scientifique- 146 -

1)	La réaction de Heck.....	- 146 -
a)	Généralités	- 146 -
a1)	Génération du catalyseur.....	- 148 -
a2)	Formation de l'espèce organopalladiée	- 149 -
a3)	Transformation de l'espèce organopalladiée	- 149 -
b)	Contrôle de la régiosélectivité	- 150 -
c)	Développements récents	- 152 -
c1)	Catalyseurs	- 152 -
c2)	Ligands.....	- 156 -
c3)	Milieux éocompatibles.....	- 157 -
c4)	Activation.....	- 161 -
d)	Applications synthétiques.....	- 165 -
d1)	La réaction de Heck pour la synthèse de produits naturels.....	- 165 -
d2)	La réaction de Heck dans la synthèse de la céphalotaxine.....	- 165 -

III. Etude de la réaction de Heck- 168 -

1)	Résultats préliminaires	- 168 -
2)	Modèle d'étude.....	- 174 -
3)	Faisabilité de la réaction: caractérisation du produit de couplage	- 179 -

IV. Mise en place du plan d'expérience.....- 181 -

1)	Généralités	- 181 -
a1)	les plans de criblage	- 185 -
a2)	Les plans de modélisation	- 185 -
a3)	Les plans factoriels complets/fractionnaires.....	- 186 -
2)	Résultats expérimentaux	- 186 -
3)	Calcul des effets	- 190 -
a)	Effet des facteurs dans le toluène	- 190 -
b)	Effet des facteurs dans l'eau	- 191 -
c)	Discussion	- 192 -
d)	Calcul de l'effet global et de l'effet moyen	- 192 -
4)	Interaction des facteurs A, B et C	- 195 -
a)	Effet Moyen du facteur A (catalyseur)	- 196 -
b)	Effet Moyen du facteur B (ligand)	- 196 -
c)	Effet Moyen du facteur C (base)	- 197 -
5)	Equation de réponse théorique	- 200 -
6)	Couplage modèle avec la buténone	- 200 -
6)	Conclusion	- 202 -

V. Accès au fragment AC.....- 204 -

1)	Synthèse des dérivés aromatiques halogénés.....	- 204 -
a)	Ozonolyse réductrice	- 204 -
b)	Unités A iodées	- 205 -
c)	Unité AC iodée	- 209 -

<i>c1) Préparation du dérivé di-iodé</i>	- 209 -
<i>c2) Préparation de l'unité AC</i>	- 211 -
d) Unité AC bromée.....	- 214 -
2) Accès aux oléfines C1-C4.....	- 214 -
a) Monoacétate de la butanedione	- 215 -
b) Monoéther d'énol méthylique de la butanedione	- 215 -
c) Ether d'énol silylé de la 2,3-butanedione	- 217 -
VI. Etude du couplage de Heck	- 218 -
1) Aromatiques halogénés utilisés pour le couplage de Heck	- 218 -
2) Oléfines utilisées pour le couplage de Heck	- 218 -
3) Couplage de Heck avec l'alcool iodé 663b	- 220 -
a) Couplage avec le méthacrylate de méthyle	- 220 -
b) Couplage avec la méthyl vinyl cétone	- 221 -
4) Couplage de Heck avec le dérivé di-iodé	- 222 -
5) Couplage de Heck avec l'acétate iodé 667	- 223 -
a) Avec des oléfines α -substituées	- 223 -
b) Couplage avec la méthyl vinyl cétone	- 224 -
<i>b1) Matrice d'expérience</i>	- 224 -
<i>b2) Autres paramètres de la réaction</i>	- 226 -
<i>b3) Réactions de Heck en transfert de phases</i>	- 228 -
6) Couplage de Heck des unités AC.....	- 229 -
a) Couplage de l'unité AC bromée en conditions de Fu	- 229 -
b) Couplage de l'unité AC iodée en conditions optimisées	- 230 -
VII. Elaboration du motif 1,2-dicétone	- 232 -
1) Par oxydation de l'énone	- 232 -
2) Par oxydation d'une α -méthylènedicétone	- 233 -
a) Etudes sur un modèle	- 233 -
b) Fonctionnalisation d'un synthon A	- 237 -
VIII. Conclusion	- 240 -
C. PARTIE EXPÉRIMENTALE	- 246 -
I. Généralités	- 246 -
1) Techniques expérimentales:.....	- 246 -
2) Spectroscopies et caractéristiques physiques:.....	- 246 -
3) Réactions sous irradiation micro-onde:	- 246 -
II. Description des modes opératoires et des produits	- 246 -

A. INTRODUCTION

Les plantes sont aujourd'hui la source exclusive de médicaments pour la majorité de la population mondiale et les produits d'origine végétale constituent 25% des médicaments prescrits. La recherche d'agents anticancéreux de sources végétales a commencé sérieusement dans les années 1950. Plus de 1000 plantes possèdent d'importantes propriétés anticancéreuses, parmi lesquelles se trouvent les *Cephalotaxus*.

I. Les alcaloïdes de *Cephalotaxus*

1) Généralités

Depuis maintenant 40 ans des chimistes se sont intéressés à l'extraction, à la détermination de structure, à la biogenèse, à l'activité biologique de la céphalotaxine **1** et de ses esters, en vue de l'utilisation thérapeutique de ces derniers, et de nombreux chimistes ont bien sûr tenté de les synthétiser.¹ La céphalotaxine **1** (Figure 1) est extraite de conifères de la famille des taxacées. Cette molécule, ainsi que ses esters naturels, les harringtonines, sont des alcaloïdes présents dans les *Cephalotaxus*, des conifères originaires du sud de la Chine. Parmi ces esters, l'homoharringtonine **2** possède de remarquables propriétés antitumorales, notamment antileucémiques (Figure 1). Elle est utilisée pour cette indication en Chine et des études à grande échelle sont réalisées aux Etats Unis.² En France, des essais cliniques de Phase II sont en cours.

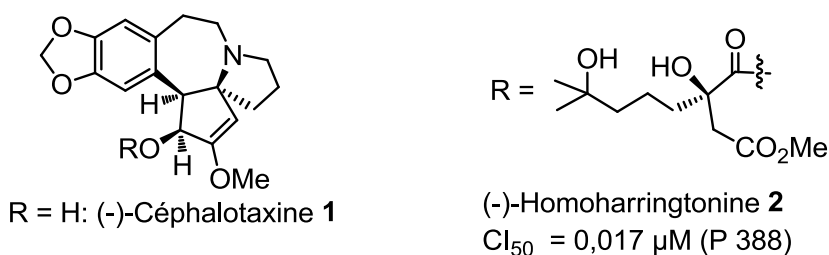


Figure 1



Figure 2: Aiguilles et fruits de *Cephalotaxus harringtonia*

1 H. Abdelkafi, B. Nay, *Nat. Prod. Rep.*, **2012**, 29, 845-869.

2 R. G. Powell, *J. Nat. Prod.*, **2009**, 72, 516-523.

La céphalotaxine **1** (CET) est le composé le plus abondant (5%) dans la plante. Il est possible d'en extraire jusqu'à 2 kg pour une tonne d'aiguilles sèches. Au vu de l'activité très intéressante de certains de ces esters, de la faible occurrence (8 espèces conduisent à ce produit), de la croissance très lente des arbustes dont elle provient, la CET **1** tout d'abord, et aussi le développement de nouveaux analogues, suscitent depuis la détermination de sa structure exacte en 1969,³ un grand intérêt chez les chimistes. Sa structure avait été partiellement déterminée par les efforts en particulier de McKay et collaborateurs⁴ et finalement a été élucidée par la diffraction des rayons X^{3b,5}. La structure de la chaîne latérale et celle de la CET **1**, ainsi que leurs configurations absolues sont des éléments clé pour l'activité anti leucémique.⁶

Bien que le coeur de ces alcaloïdes, à savoir la CET **1**, soit biologiquement inactif, plusieurs membres de cette famille de produits naturels ont montré une activité antileucémique remarquable,⁷ particulièrement les dérivés d'ester en C(3) (Figure 1). Par exemple, l'homoharringtonine **2** (HHT) présente une CI₅₀ de 0,017 µg/mL contre les cellules de leucémie P-388.⁸ L'activité de l'HHT **2** a été démontrée par plus de 50 études cliniques, principalement commanditées par l'Institut National contre le Cancer aux Etats-Unis (NCI), et de Chine, d'où sont originaires les *Cephalotaxus*. Plus de 1200 patients ont reçu de l'HHT dans des études cliniques de phase I ou de phase II pour la leucémie. L'HHT **2** a démontré une activité clinique dans la leucémie myéloïde chronique (LMC) et la leucémie myéloïde aiguë (LMA) par l'inhibition de la synthèse protéique⁹ et mort par apoptose des cellules.¹⁰ De nombreuses études biologiques et cliniques effectuées avec l'HHT **2** d'origine naturelle ont été publiées. La connaissance globale sur la drogue est récapitulée dans des revues, chacune d'elles se rapportant à plus de 100 articles édités sur HHT.¹¹ L'efficacité décrite dans ces études concerne l'utilisation de l'HHT **2**, employée comme agent anticancéreux seul ou en

3 (a) R.G. Powel, D. Weisleder, C. R. Smith Jr., I. A. Wolff, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 4081-4084. (b) D. J. Abraham, R. D. Rosenstein, A. L. McGandy, *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 4085-4086.

4 W. W. Paudler, G. I. Kerley, J. McKay, *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 2194-2197.

5 (a) S. K. Arora, R. B. Bates, R. A. Grady, R. G. Powell, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 1269-1271. (b) S. K. Arora, R. B. Bates, R. A. Grady, G. Germain, J. P. Declercq, R. G. Powell, *J. Org. Chem.*, **1976**, 39, 551-554.

6 (a) K. L. Milolajczak, C. R. Smith Jr., D. J. Weisleder, *J. Med. Chem.*, **1977**, 20, 328-332. (b) X. Ji, F. Zhang, X. Dong, *Acta Pharm. Sin.*, **1983**, 18, 299.

7 C. C. Huang, C. S. Han, X. F. Yue, C. M. Shen, S.W. Wang, F.G. Wu, B. Xu, *J. Natl. Cancer Inst.*, **1983**, 71, 841-847.

8 I. Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, Y. Hitotsuyanagi, K. Takeya, H. Itokawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1689-1690.

9 G. Gürel, G. Blaha, P. B. Moore, T. A. Steitz, *J. Mol. Biol.*, **2009**, 389, 146-156 et références citées.

10 R. Tang, A. M. Faussat, P. Majdak, C. Marzac, S. Dubrulle, Z. Marjanovic, O. Legrand, J.-P. Marie, *Mol. Cancer Ther.*, **2006**, 5, 723-31.

11 A. Quintás-Cardama, J. Cortes, *Expert. Opin. Pharmacother.*, **2008**, 9, 1029-37.

combinaison.¹² Son mécanisme spécifique d'action (voir p 54) et l'absence de la résistance croisée avec d'autres agents utilisés en thérapeutique offre un éventail de thérapies de combinaison avec un effet synergique prometteur. En outre, il a été montré que les malades du cancer qui étaient devenus résistants à d'autres formes de chimiothérapie, par exemple à l'inhibiteur de protéine kinase Gleevec[®], ont répondu franchement à l'HHT **2**, indiquant une possible activité de réversion de la résistance multiple aux drogues (MDR).^{13,14,15}

En dépit de son efficacité clinique, l'HHT d'origine naturelle n'a pas été enregistrée jusqu'à présent, simplement parce que les formulations normales d'extrait ont soulevé plusieurs difficultés non résolues, telles que la reproduction du produit d'une façon identique, le profil de pureté, l'origine unique de la source de matière première en Chine et les problèmes de conservation de la biodiversité, les arbustes *Cephalotaxus* ayant une croissance extrêmement lente sont des espèces menacées et maintenant protégées. La céphalotaxine **1** et ses esters actifs dont l'homoharringtonine **2** sont cependant présents en faible quantité dans la plante (racines, écorce et feuilles), ce qui rend difficilement envisageable de les exploiter afin d'obtenir, soit la céphalotaxine **1**, soit ses esters actifs. L'HHT héli-synthétique (Myelostat[®] ou Ceflatonin[®]) est fabriquée par un procédé héli-synthétique à partir de la (-)-céphalotaxine d'origine naturelle, l'alcaloïde le plus abondant dans la plante, et d'un précurseur de chaîne latérale synthétique.¹⁶ L'HHT héli-synthétique est entrée dans des études cliniques de phase II pour la LMC en combinaison avec le Gleevec[®] de Novartis pour des patients résistants au Gleevec[®]. Des essais cliniques de phase II/III continuent de montrer les résistances au Gleevec[®] et l'activité de l'HHT dans ce cas. Ainsi, ces composés ont fait l'objet d'une intense recherche ces 40 dernières années, en particulier en Chine et aux Etats-Unis.^{17,18,19,20,21,22} Nous

12 H. M. Kantarjian, M. Talpaz, T. L. Smith, J. Cortes, F. J. Giles, M. B. Rios, S. Mallard, J. Gajewski, A. Murgo, B. Cheson, S. O'Brien, *J. Clin. Oncol.*, **2000**, *18*, 3513-3520.

13 M. M. Coude, O. Luyckx, M.E. Cariou, O. Maarek, H. Dombret, J. M. Cayuela, D. Rea, *Br. J. Haematol.*, **2012**, *157*, 407-10.

14 H. Labussière, S. Hayette, I. Tigaud, M. Michallet, F.-E. Nicolini, *Bull. Cancer*, **2007**, *94*, 863-9.

15 A. Quintas-Cardama, H. Kantarjian, J. Cortes, *Cancer*, **2009**, 5382-5392.

16 J.-P. Robin, R. Dhal, G. Dujardin, L. Girodier, L. Mevellec, S. Poutot, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 2931-2934.

17 C. R. Smith Jr., K. L. Mikolajczak, R. G. Powell, in *Medicinal Chemistry - Anticancer Agents Based on Natural Products Models*, J. M. Cassady, J. D. Douros, Ed., Academic Press: New York, USA, **1980**, *16*, 391-416.

18 L. Huang, Z. Xue, in *The Alkaloids - Chemistry and Pharmacology*, F. M. Manske, Ed. Academic Press: New York, USA, **1984**, *23*, pp 157-226.

19 T. Hudlicky, L. D. Kwart, J. W. Reed. In *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*, S. W. Pelletier, Ed. John Wiley & Sons: New York - USA, **1987**, *5*, 639-690.

20 W. Tang, G. Eisenbrand, in *Chinese Drugs of Plant Origin, Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine*, Springer-Verlag: Berlin, Germany, **1992**, pp 281-306.

21 M. A. Miah Jal, T. Hudlicky, Reed, J. W. in *The Alkaloids*: F. M. Manske, Ed. Academic Press: New York, USA, **1998**, *51*, pp 199-269.

présentons dans cette première partie, une étude bibliographique concernant leur isolement, leur caractérisation ainsi que leur purification avant d'aborder les synthèses de la céphalotaxine **1**.

2) Isolement des alcaloïdes de type *Cephalotaxus*

Dès 1954, Wall révélait la présence d'alcaloïdes dans les plantes du genre *Cephalotaxus*.²³ *Cephalotaxus* est le seul genre de la famille *Cephalotaxaceae*; il est composé de dix espèces d'arbres à croissance très lente, la plupart originaire de Chine. Deux de ces espèces, *C. harringtonia* et *C. manii* se retrouvent dans le monde entier entre le 30^{ème} et le 40^{ème} parallèle, en Chine, au Japon, aux Etats-Unis et aussi en Argentine et en Uruguay. Les huit autres espèces, *C. fortunei*, *C. hainanensis*, *C. wilsoniana*, *C. oliveiri*, *C. lanceolata* et *C. sinensis* se rencontrent exclusivement en Chine. Certaines espèces peuvent se diviser en un petit nombre de variétés. Ces plantes qui se présentent sous la forme d'arbustes appartiennent à l'ordre des Conifères et affectionnent particulièrement les régions d'altitude moyenne (800-2000 mètres) à fort taux d'humidité.^{24,25}

a) Isolement de la céphalotaxine

Les expériences suggérant la présence d'alcaloïdes des espèces de *Cephalotaxus* ont été décrites dans les années 1950, encore sans complément d'investigation chimique.²³

En 1963, Paudler et collaborateurs ont étudié plus particulièrement l'extraction et la caractérisation des alcaloïdes de *Cephalotaxus fortunei*, connu sous le nom de prunier de Chine, et de *C. harringtonia*, aussi appelé prunier du Japon ou pin « queue de vache ».⁴ Ces alcaloïdes se retrouvent dans différentes parties de la plante dont les aiguilles, l'écorce, les tiges, les racines et les graines. Deux procédures d'extraction des alcaloïdes de *Cephalotaxus* sont utilisées: la première consiste à piler la plante dans l'éthanol puis à acidifier l'extrait alcoolique concentré afin de séparer les composés non-alcaloïdiques par extraction au chloroforme. Le résidu aqueux est alors rendu basique puis extrait au chloroforme (Figure 4, p 10). Les alcaloïdes peuvent aussi être obtenus par extraction avec une solution d'acide chlorhydrique dilue suivie d'une élution au chloroforme sur une colonne de résine, ce qui a

22 H. Yang, M. Sun, S. Zhao, M. Zhu, Y. Xie, C. Niu, C. Li, *J. Org. Chem.*, **2012**, en ligne le 18 décembre 2012, DOI: 10.1021/jo302203g.

23 (a) Wall, M. E.; Eddy, C. R.; Willaman, J. J.; Correll, D. S.; Schubert, B. G.; Gentry, H. S. *J. Am. Pharm. Assoc.*, **1954**, 43, 503-505. (b) T. Kariyone, M. Takahashi, A. Nitta, Y. Tsunehisa, Z. Yakugaku, *J. Pharm. Soc., Japan*, **1956**, 76, 611. *Chem. Abstr.*, **1956**, 50, 71321. (c) I. H. Y. Hsu, T.Y. Zazhi, J. Taiwan, *Pharm. Assoc.*, **1957**, 9, 5; *Chem. Abstr.* **1959**, 53, 41795.

24 W. Cheng, L. Fu, C. Chao, in *Flora Republicae Popularis Sinicae.*, **1978**, 7, 463.

25 Y. H. Chen, G. Huang, *Zhongcaoyao Tongxun*, **1977**, 254.

l'avantage d'éviter la formation d'émulsions. Les constituants du mélange brut d'alcaloïdes peuvent être séparés par chromatographie sur gel de silice ou sur alumine. Ainsi, Paudler obtient à partir des feuilles et des tiges de *C. harringtonia* var. *drupacea* et *C. fortunei* des extraits d'alcaloïdes bruts,⁴ représentant respectivement 0,35 et 0,39% de la masse du végétal pilé. Il isole majoritairement (50 à 54% du brut) un solide blanc cristallin qu'il nomme céphalotaxine.

b) Isolement des esters de la céphalotaxine

Des études ultérieures portant sur l'extraction et la séparation d'alcaloïdes de *C. harringtonia* var. *harringtonia* ont conduit à l'isolement de quatre nouveaux alcaloïdes biologiquement actifs: l'homoharringtonine (HHT) **2**, l'harringtonine (HT) **3**, l'isoharringtonine (isoHT) **4**,²⁶ et la déoxyharringtonine (déoxyHT) **5**²⁷ (Figure 3).

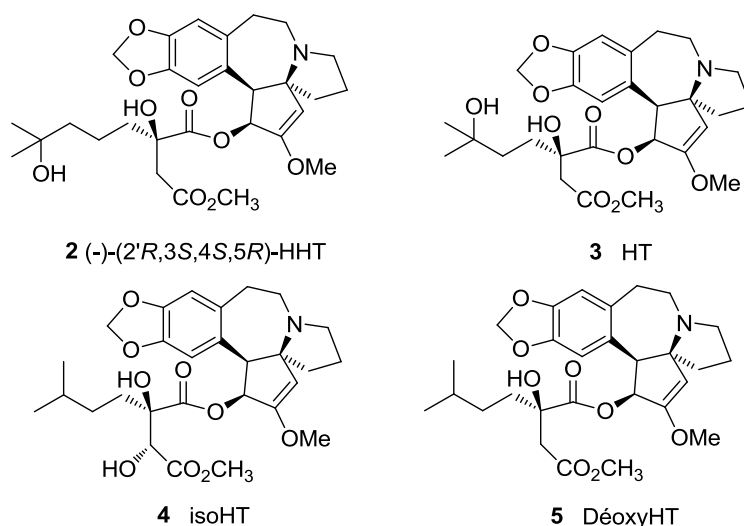


Figure 3

Le procédé d'obtention des esters actifs **2-4** consiste en une succession d'extractions et de passage des alcaloïdes soit dans la phase aqueuse par acidification qui fait passer uniquement les alcaloïdes sous forme de sels solubles dans l'eau soit dans la phase organique après retour à pH basique. Plusieurs purifications chromatographiques sont nécessaires pour isoler les esters actifs.

L'analyse par CCM de la première distribution à contre courant (DCC) de 330 g d'extrait alcaloïdique isolé à partir de 455 kg de végétal pilé montre que la CET **1** est présente dans les tubes 1 à 3 et est donc l'alcaloïde le plus soluble dans le tampon de McIlvaine (pH 5) (50 mM phosphate/citrate, 100 mL acide citrique 50Mm + Na₂HPO₄ 50mM).²⁶

26 R. G. Powell, S. P. Rogovin, C. R. Smith. Jr., *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop.*, **1974**, 13, 129-132.

27 K. L. Mikolajczak, R. G. Powell, C. R. Smith Jr., *Tetrahedron*, **1972**, 28, 1995-2001.

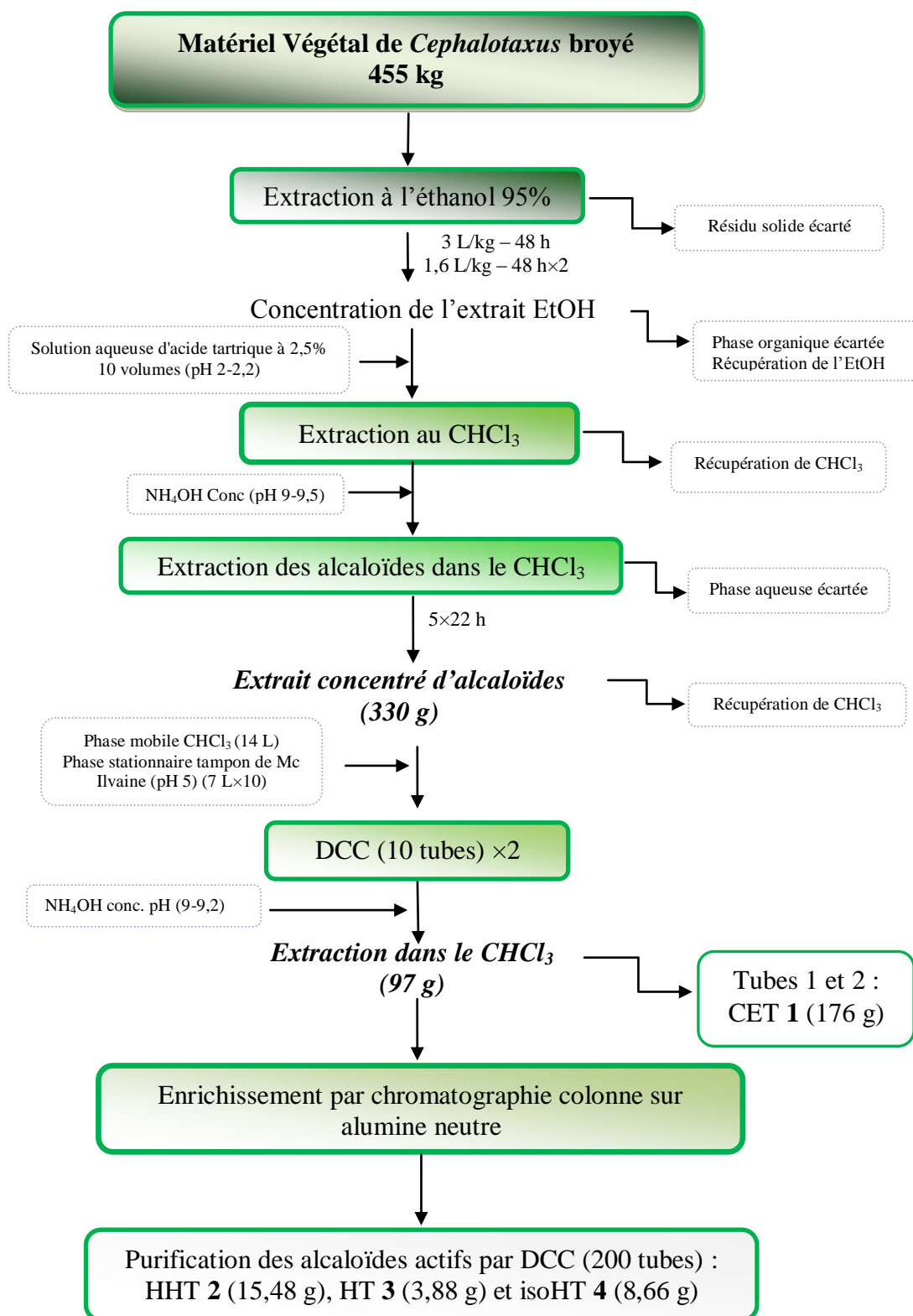


Figure 4: Diagramme du flux de production d'alcaloïdes antitumoraux extraits et purifiés par chromatographie de distribution à contre courant de (DCC) à partir de végétaux de *Cephalotaxus*. (Lot A : 240 kg de branches hautes et basses sans feuilles (74 g d'alcaloïdes, 87%), lot B : 215 kg de branches basses et racines (253 g d'alcaloïdes, 100%).

La concentration des tubes 1 et 2 permet d'obtenir 176 g de CET 1 pure et montre que c'est l'alcaloïde majoritaire. L'HT 3 et l'HHT 2, inséparables en CCM, sont concentrées dans les tubes 3 à 6 et sont partiellement séparés. L'isoHT 4 est trouvée dans les tubes 6 à 9 avec un certain chevauchement dans les tubes 5 et 10 et donc la moins soluble dans le tampon. Un mélange de plusieurs homoérythrinanes avec d'autres alcaloïdes est également présent dans les tubes 8 à 10 (tableau 1). Les tubes 3 à 8 sont ensuite fractionnés séparément sur colonne d'alumine neutre (Figure 5, Tableau 1). Dans ces conditions, la CET 1 est éluée d'abord, suivie par l'isoHT 4 puis par un mélange d'HT 3 et d'HHT 2.

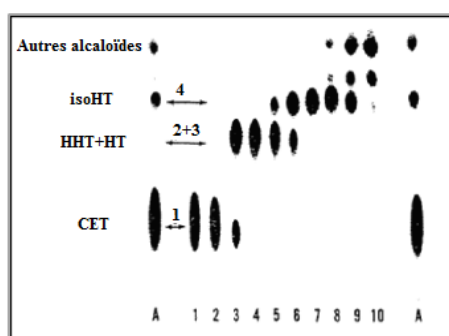


Figure 5 : Chromatographie sur couche mince de mélange brut d'alcaloïdes de *Cephalotaxus* et de fractions après une distribution à contre-courant du mélange dans 10 tubes : A : Mélange brut d'alcaloïdes ; 1-10 : fractions obtenues après distribution à contre-courant de A.

Tableau 1: Enrichissement des alcaloïdes de *Cephalotaxus* par chromatographie sur colonne des 10 tubes de CCD

Fraction de la CCD	Masse, g	Fractions de la colonne	Masse, g	Alcaloïdes
1	128	-	-	CET 1
2	47,7	-	-	CET 1
3	12,6	17-28 33-48	2,71 5,15	CET 1 HT 3 et HHT 2
4	12,2	33-44	6,68	HT 3 et HHT 2
5	13,4	31-32 33-44	0,31 6,68	isoHT 4 HT 3 et HHT 2
6	14,4	31-34 35-48	1,68 4,83	isoHT 4 isoHT 4*
7	18,2	27-48	8,43	isoHT 4*
8A	11	31-50	3,84	isoHT 4*
8B	11	33-50	3,51	isoHT 4*
9	25,8	-	-	Autres
10	20,7	-	-	Autres

* Fractions qui contiennent des quantités mineures de HT 3 et HHT 2

Les fractions de chaque chromatographie sur colonne des 10 tubes de DCC sont réunies en quatre lots en fonction de leur teneur en alcaloïdes (Tableau 2) et chacun de ces lots est purifié à nouveau par une DCC de 200 tubes. Le lot 1 (12,03 g de mélange HT **3** + HHT **2**) est réparti également dans les 10 premiers tubes. Avec le système chloroforme (phase stationnaire) et tampon de McIlvaine (pH 5, phase mobile), et avec 10 minutes entre chaque transfert (190), l'harringtonine **3** passe sur l'homoharringtonine **2**, et l'HHT **2** passe sur l'isoHT **4** qui sont ainsi hautement purifiées (Figure 6). Les lots 2 (10,9 g d'isoHT **4** avec un peu d'HHT **2**) et 3 (11,03 g de mélange HT **3** + HHT **2** + isoHT **4**) sont engagés dans une DCC identique ce qui permet au final de recueillir 15,48 g d'HHT **2**, 3,88 g d'HT **3** et 8,66 g d'isoHT **4**. Le lot 4 (7,35 g, principalement isoHT **4**), combiné aux fractions de mélanges d'HT **3** et d'HHT **2** des DCC 1 et 3 précédentes (2,49 g) engagé dans la dernière DCC fournit 5,76 g d'isoHT **4**, 1,15 g d'HHT **2** et 1,38 g d'HT **3** comme montré dans la figure 6.

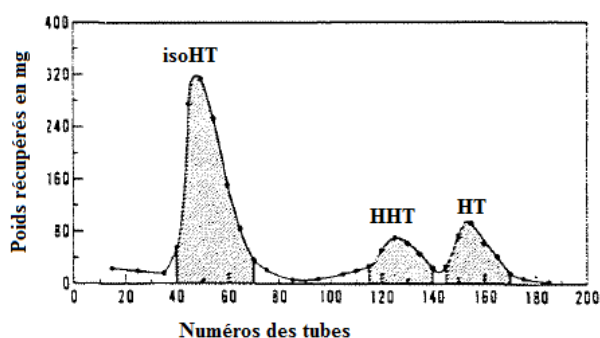


Figure 6: Poids des fractions en alcaloïdes **2** à **4** récupérés dans les 200 tubes de la DCC du lot 4. Les zones grisées représentent les fractions combinées pour obtenir des alcaloïdes de haute pureté.

Ce sont au total 16,6 g d'HHT **2**, 5,3 g d'HT **3**, 14,4 g d'isoHT **4** et 176 g de CET **1** qui sont obtenus à partir de 455 kg de *Cephalotaxus* (Tableau 2).²⁶

Tableau 2: Rendements en divers alcaloïdes issus de 455 kg de matériel végétal sec de *Cephalotaxus harringtonia*

Alcaloïdes	Masse, g	Rendement (%) [Alcaloïdes totaux]	Rendement (%) [Matériel végétal]
Total	330	100	0,0720
CET 1	176	50,6	0,0367
HHT 2	16,6	5	0,0037
HT 3	5,3	1,6	0,0012
IsoHT 4	14,4	4,4	0,0032

Plus récemment, l'équipe de Takano a isolé en plus faible quantité et caractérisé de nouveaux esters de la céphalotaxine **1** présents dans les feuilles et les tiges de *C. harringtonia* var. *drupacea*.²⁸ Parmi les composés décrits, on trouve des molécules couplées avec des chaînes latérales portant une fonction ester comme dans l'homodéoxyharringtonine (HomodéoxyHT ou déoxyHHT) **6**, préalablement isolée de cultures cellulaires de *C. harringtonia*,²⁹ accompagnée de la nordéoxyharringtonine (NordéoxyHT) **7** et de la bishomodéoxy-harringtonine (BishomodéoxyHT) **8** (Figure 7). Ces sept composés **2-8** sont des esters de la céphalotaxine **1**, possédant tous son noyau pentacyclique couplé à différentes chaînes latérales dérivant de l'acide (*R*)-citramalique.

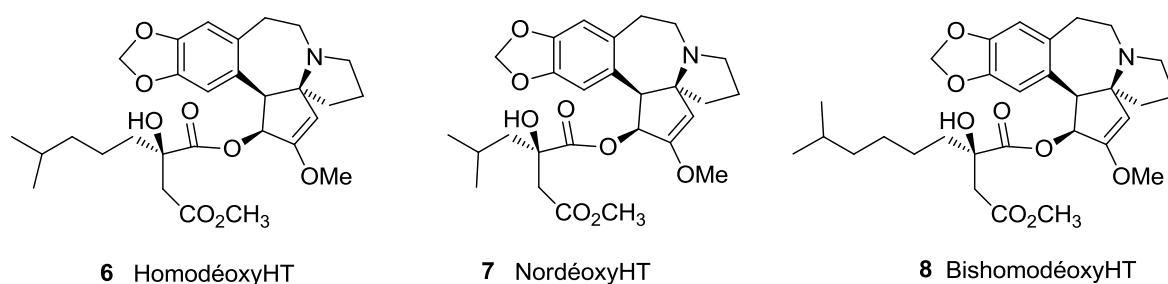


Figure 7

On trouve également des molécules couplées avec des chaînes latérales portant une fonction acide libre (Figure 8).

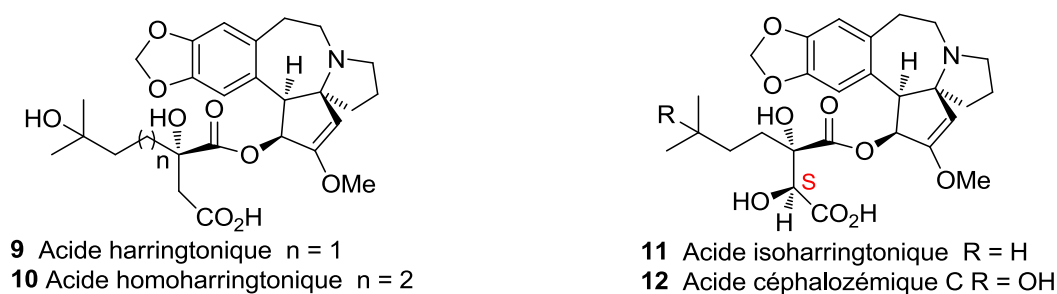


Figure 8

Des quatre acides isolés,³⁰ deux sont nouveaux, la 5'-des-*O*-méthylharringtonine **9** (acide harringtonique) et la 3'*S*-hydroxy-5'-des-*O*-méthylharringtonine **12** (acide céphalozémique C) alors que la 5'-des-*O*-méthylhomoharringtonine **10** (acide

28 I. Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, Y. Hitotsuyanagi, K. Takeya, H. Itokawa, *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 965-967.

29 N. E. Delfel, G. A. Rothfus, *Phytochemistry*, **1977**, 16, 1595-1598.

30 I. Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, Y. Hitotsuyanagi, K. Takeya, H. Itokawa, *Phytochemistry*, **1996**, 43, 299-303.

homoharringtonique) avait été identifiée comme métabolite de l'HHT **2** chez le rat et le lapin³¹ et la 5'-des-*O*-méthylisoharringtonine **11** (acide isoharringtonique) avait été isolée de *C. hainensis*.³²

D'autres possèdent une fonction ester et un noyau aromatique, comme dans la l'homonéoharringtonine **14** et la 3'S-hydroxyneoharringtonine **15**.³³ Leurs structures ont été établies par spectroscopie, notamment par RMN 2D et par dichroïsme circulaire (DC) (Figure 9). Certains de ces esters possèdent des activités biologiques comparables à celles des quatre premiers esters isolés (Tableau 3) mais ils sont disponibles en quantités bien plus faibles dans la plante.

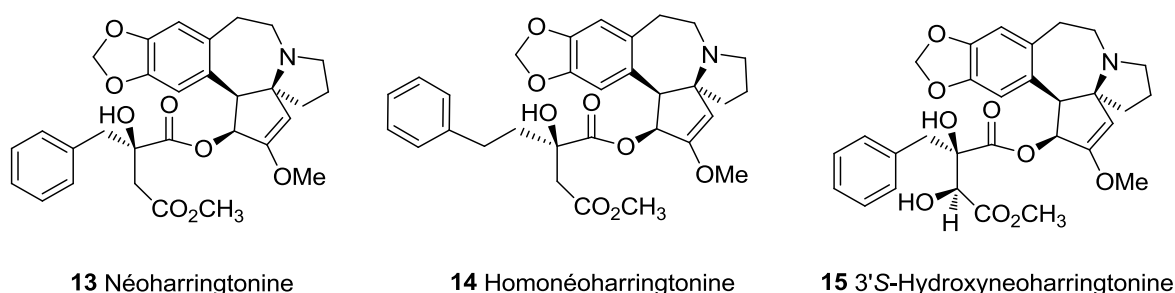


Figure 9

Tableau 3: Activités in vivo de dérivés de la céphalotaxine 13-15 contre la leucémie murine P388³³

Composés	CI ₅₀ µg/mL contre P388
HT	0,032
HHT	0,017
NéoHT 13	0,28
HomonéoHT 14	0,19
3'S-OHnéoHT 15	0,012

En 1969, la découverte par Powell de l'activité antitumorale de l'harringtonine **3**, isolée de *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* contre les leucémies L1210 et P388 chez la Souris (1 mg/kg)^{3a} a stimulé la recherche d'autres alcaloïdes de *Cephalotaxus*. En 1972, celle des quatre principaux esters **2-5** isolés de *C. harringtonia* K. Koch var. *harringtonia* est reportée et l'HHT **2** est la plus active (1 mg/kg).³⁴ Cette recherche a été facilitée par le développement d'une méthode d'analyse quantitative des extraits alcaloïdiques bruts par

31 Y. Y. Cui, M. Z. Wang, *Yaoyue Xuebao (Acta. Pharm. Sinica)*, **1991**, 26, 274. *Chem. Abstr.*, 115, 21579d.

32 Z. Xue, L. Xu, D. Chen, L. Huang, *Acta. Pharm. Sinica.*, **1981**, 16, 752.

33 I. Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, Y. Yanagi, K. Takeya, H. Itokawa. *Phytochemistry*, **1997**, 44, 735-738.

34 R. G. Powell, D. Weisleder, Smith. Jr, R. Cecil. *J. Pharm. Scinica.*, **1972**, 61, 1227-1230.

chromatographie en phase gazeuse mise au point par Powell.³⁵ Ainsi, des études systématiques ont été conduites sur six des dix espèces du genre *Cephalotaxus*: *C. fortunei*, *C. hainanensis*, *C. harringtonia*, *C. wilsoniana*, *C. oliveiri* et *C. sinensis*.

En 2000 Kobayashi³⁶ et son équipe ont isolé dans les feuilles de *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana* de nouveaux alcaloïdes cytotoxiques, dont les céphalezomines C-F (**16-19**) qui sont des esters de la céphalotaxine (Figure 10), accompagnés de 7 alcaloïdes connus: les esters HT **3**, isoHT **4**, déoxyHT **5**, homodéoxyHT **6**, la CET **1**, et des alcaloïdes apparentés à la céphalotaxine : déméthylCET **23**,³⁷ 11-hydroxyCET **26**^{3a,38} et drupacine **27**^{3a,38} (Figure 11) et certains de leurs esters (Figure 12). Leur structure et leur stéréochimie ont été élucidées par des données spectroscopiques, de dichroïsme circulaire et de diffraction des rayons X. Parmi les nouveaux alcaloïdes de *Cephalotaxus* ayant un squelette de type céphalotaxine avec différentes chaînes latérales en C-3, la céphalezomine D **17** est le premier alcaloïde possédant la configuration absolue (2'R,3'R). Dans cette étude, l'équipe de Kobayashi décrit également la cytotoxicité de ces nouveaux alcaloïdes (Tableau 11, p 62). Deux ans plus tard, Kobayashi et Morita³⁹ ont décrit l'isolement de cinq nouveaux alcaloïdes, les céphalezomines G-L à partir des feuilles de *C. harringtonia* var. *harringtonia* (Sapporo, Japon) dont les céphalezomines K **20** et L **21** sont des esters de la céphalotaxine épimères en C4' (Figure 10).

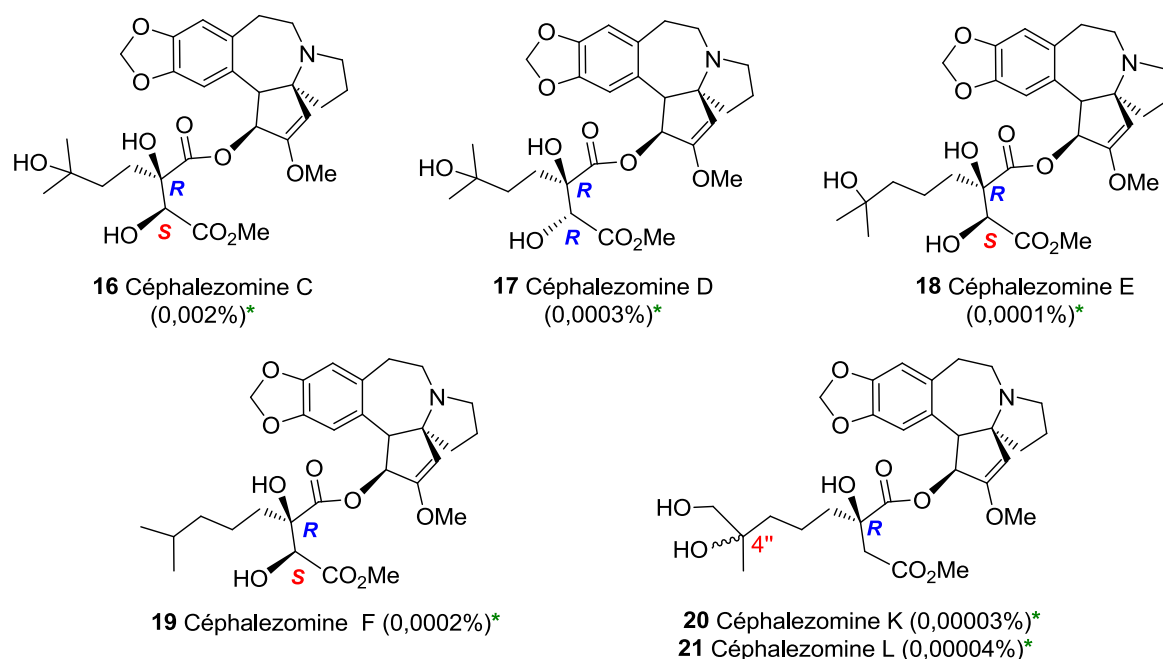
35 G. F. Spencer, R. D. Plattner, R. G. Powell, *J. Chromatogr.*, **1976**, 335-341.

36 H. Morita, M. Arisaka, N. Yoshida, J.'i. Kobayashi, *Tetrahedron*, **2000**, 56, 2929-2934.

37 W. W. Paulder; J. McKay, *J. Org. Chem.*, **1973**, 38, 2110-2112.

38 R. G. Powell, R. V. Madrigal, C. R. Smith Jr. K. L. Mikolajczak, *J. Org. Chem.*, **1974**, 12, 676-680.

39 H. Morita, M. Yoshida, J.'i. Kobayashi, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 5489-5495.



*: Rendement à partir de de *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana*, *C. hainanensis* ou *C. fortunei*

Figure 10

c) Alcaloïdes apparentés à la céphalotaxine

Parmi les alcaloïdes dérivant de la céphalotaxine **1**, des composés présentant des variations sur le cycle D comme la céphalotaxinone **22**, la déméthylcéphalotaxine **23**, l'acétylcéphalotaxine **24**, et sur le cycle C comme le céphalotaxinamide **25**, ainsi que des composés oxygénés présentant des variations sur le cycle B comme la 11-hydroxycéphalotaxine **26**, ou des composés possédant un pont oxygéné entre les cycles B et D comme la drupacine **27** ont été décrits (Figure 11).³⁸ La 11-hydroxycéphalotaxine **26** est convertie en drupacine **27** en milieu acide.³⁸

La configuration absolue des céphalezomines G **28** et H **29** décrites par Kobayashi et Morita³⁹ à partir des feuilles de *C. harringtonia* var. *harringtonia* a été déterminée par DC comme étant 2*S*,3*R* pour la céphalezomine G **28** et 2*R*,3*R* pour la céphalezomine H **29**. Cependant, la structure de la céphalezomine H **29**, attribuée initialement comme un diol *trans*, a été révisée en diol *syn*-β,β après une synthèse totale (Figure 8).⁴⁰ Les *N*-oxydes de céphalotaxine, céphalotaxine α-*N*-oxyde **31**, céphalotaxine β-*N*-oxyde **32** et 11-β hydroxycéphalotaxine β-*N*-oxyde **33**, ont été identifiés et caractérisés dans l'extract « acétate d'éthyle » de graines de *C. fortunei* par Jossang et collaborateurs en 2001 (Figure 11).⁴¹ La configuration absolue de l'isocéphalotaxine **30** isolée au cours de ce travail reste inconnue. Ces alcaloïdes montrent une faible cytotoxicité contre les cellules KB avec des valeurs de CI₅₀

40 T. Taniguchi, S'i. Yokoyama, H. Ishibashi, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 7592–7594.

41 M. Bocar, A. Jossang, B. Bodo, *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66, 152-154.

de 30, 14, 31 et 15 µg/mL respectivement.⁴¹ La desméthylcéphalotaxinone **35** a été isolée de *Cephalotaxus harringtonia* (Forbes) K. Koch var. *harringtonia* cv. *Fastigiata*. Sa structure a été démontrée par hémisynthèse à partir de la céphalotaxine **1** via la céphalotaxinone **22** qui a été méthylée et confirmée comme un métabolite naturel, et un intermédiaire de biosynthèse.⁴² La 4-hydroxycéphalotaxine **36** découverte en 1969^{3a} est un autre constituant mineur isolée de l'extrait éthanolique de *Cephalotaxus fortunei* Hook f.⁴³ puis de *Cephalotaxus koreana* Nakai.⁴⁴ Parmi les nouveaux alcaloïdes mineurs isolés de l'écorce de *Cephalotaxus hainanensis* Li (en plus des onze alcaloïdes connus), quatre analogues de la céphalotaxine **1** ont été identifiés : la céphalotaxinone **22**, la (+)-acétylcéphalotaxine **24**, la céphalotaxinamide **25** et la déméthylnéodrupacine **37** qui présentent un pont éther entre les carbones 11 et 3,⁴⁵ alors que la drupracine **27** possède un pont éther entre les carbones 11 et 2.

42 R. G. Powell, K. L. Mikolajczak, *Phytochemistry*, **1973**, 12, 2987-2991.

43 G.-E. Ma, G.-Q. Sun, M. A. El Sohly, C. E. Turner, *J. Nat. Prod.*, **1982**, 45, 585-589.

44 K. D. Yoon, Y.-W. Chin, J. Kim, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2010**, 31, 495-496.

45 X. Zhi, X. Lizhen, C. Dihua, H. Liang, *Yaoxue Xuebao (Acta. Pharm. Sinica)*, **1981**, 10, 274.

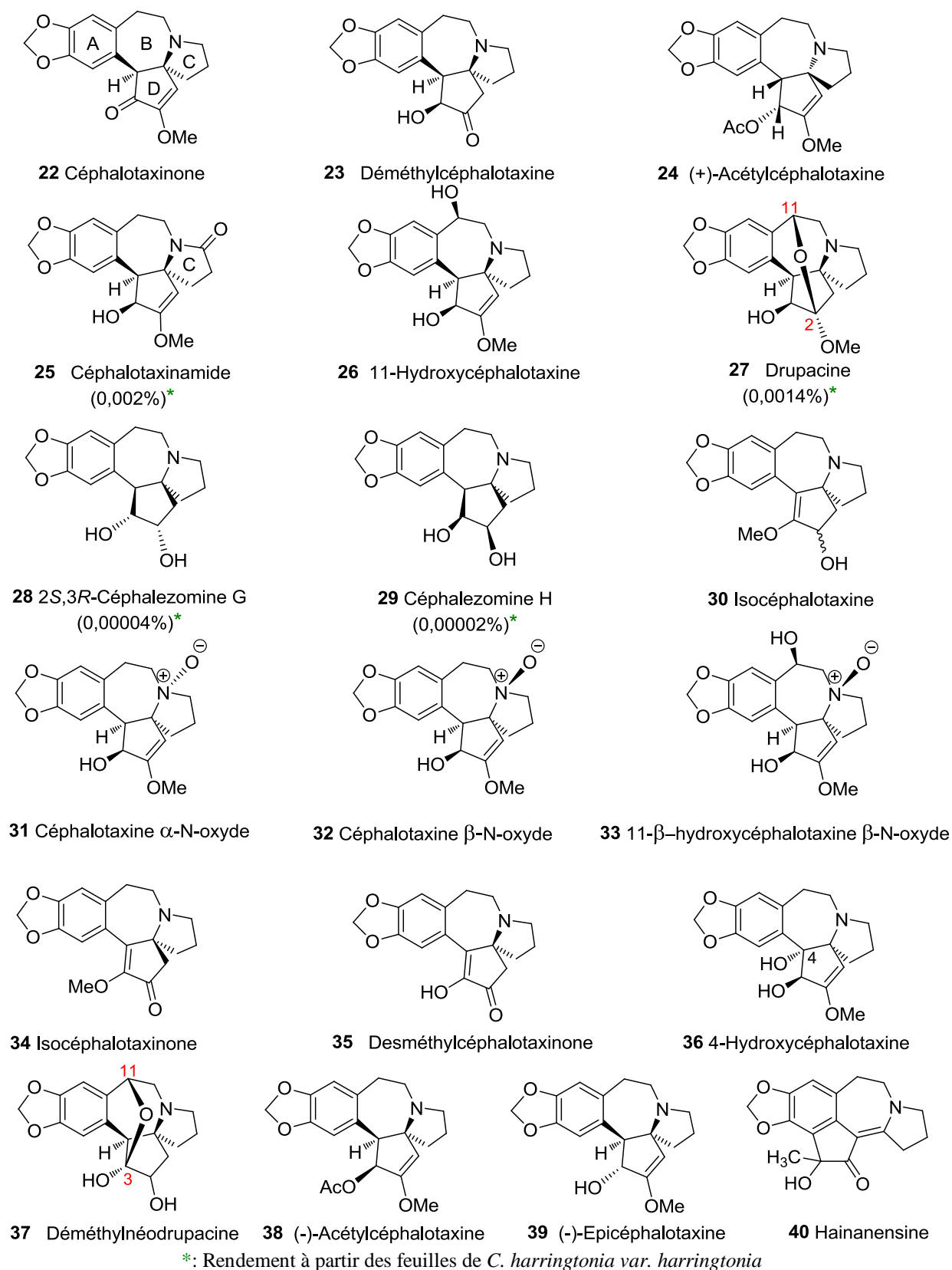
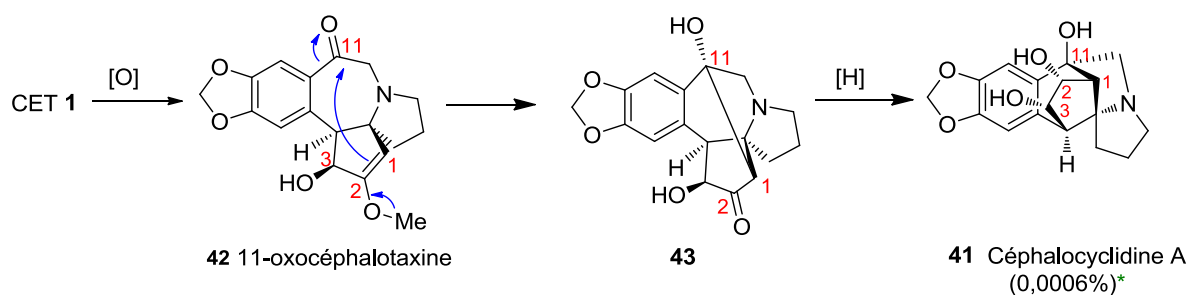


Figure 11

De façon surprenante, la (-)-acétylcéphalotaxine **38** a été obtenue par hémisynthèse (acétylation de la (-)-céphalotaxine) par Mikolajczak, alors que c'est son énantiomère **24** qui

est isolé dans la plante.³⁴ La (-)-épécéphalotaxine **39** est un métabolite mineur de *C. fortunei* Hook f. accompagnant la CET **1** (50-54% du total des alcaloïdes), la céphalotaxinone **22**, la (+)-acétylCET **24**, la déméthylCET **23**, l'HT **3** et l'HHT **2**.⁴⁶ Enfin, l'hainanensine **40**, isolée à partir de *C. hainanensis* et *C. fortunei* (Figure 11), possède un squelette unique de type céphalotaxine réarrangé.⁴⁷

Un nouvel alcaloïde, la céphalocyclidin A **41** possédant un squelette réarrangé dérivé de la céphalotaxine, a été isolé à partir de ses fruits avec un squelette pentacyclique fusionné sans précédent et six centres asymétriques contigus.⁴⁸ Il pourrait être dérivé biogénétiquement par formation de la liaison C1-C11 de **43** par une réaction d'aldolisation intramoléculaire de l'intermédiaire putatif 11-oxocéphalotaxine **42** suivie d'une réduction (Schéma 1). La cytotoxicité (CI₅₀) *in vitro* de la céphalocyclidin A **41** contre les cellules de lymphome murin L1210 et les cellules de carcinome épidermoïde humain KB est de 0,85 et 0,80 µg/mL respectivement.



*: Rendement à partir des feuilles de *C. harringtonia* var. *nana*

Schéma 1

d) Esters apparentés aux harringtonines

Le premier ester apparenté aux harringtonines possédant un pont oxygéné entre C11 et C3, la drupangtonine **44**, a été isolée en 1996 de *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea*.⁸ Plus récemment, de nouveaux alcaloïdes ont été isolés de *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana*, dont certains comme la céphalezomine A **45** et la céphalozémine B **46** ont une activité anticancéreuse analogue à celle de l'homoharringtonine **2**.³⁶

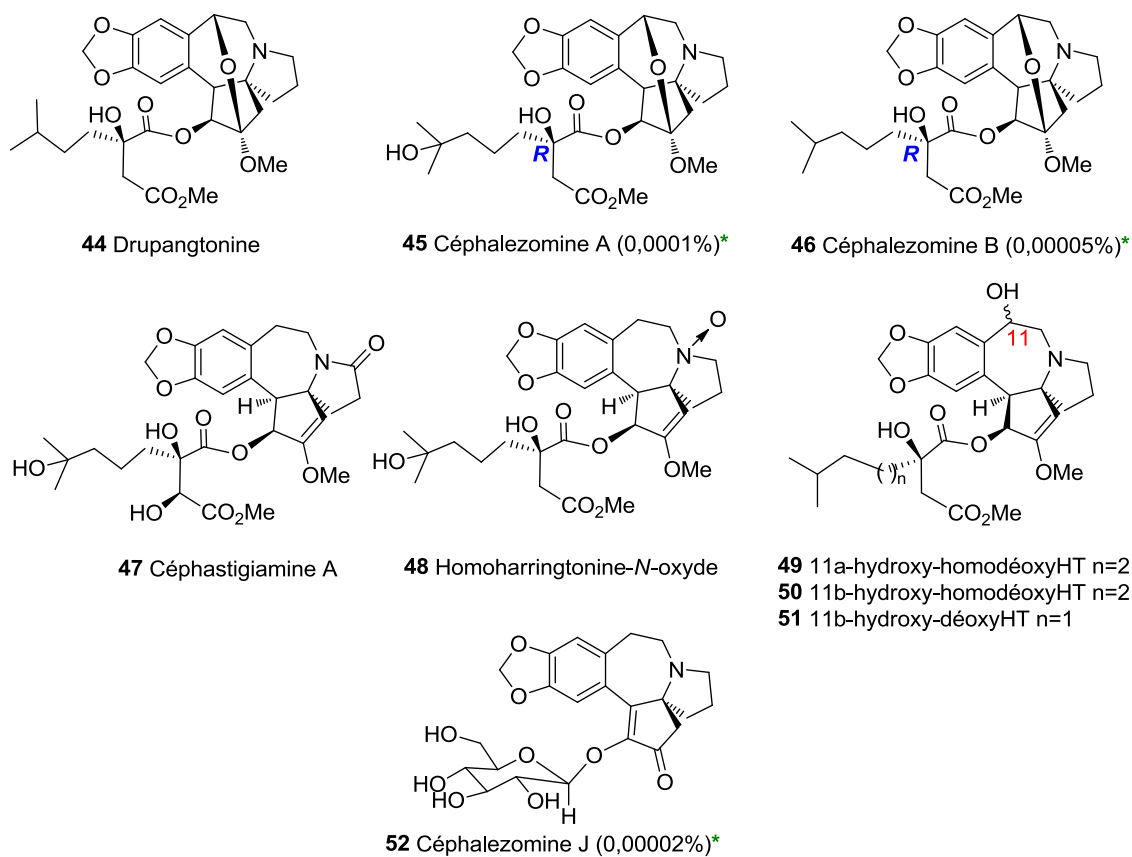
La céphalezomine J **52** isolée de feuilles de *Cephalotaxus harringtonia* var. *nana* est l'unique ester possédant une chaîne latérale de type sucre (D-glucose).³⁹

46 W. Yin, *Linchan Huaxue Yu Gongye*, **1986**, 6, 36. *Chem Abst.*, 105, 222807u.

47 N. J. Sun, X. T. Liang, *Acta Pharmacol. Sin.*, **1981**, 16, 24-26, *Chem. Abstr.*, **1981**, 95, 175622t

48 J. i. Kobayashi, M. Yoshinaga, N. Yoshida, M. Shiro, H. Morita, *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 2283-2286.

Morita et collaborateurs ont isolé un nouvel alcaloïde de *Cephalotaxus*, le céphastigiamide A **47**,⁴⁹ accompagné des alcaloïdes connus tels que la CET **1**, la céphalotaxinamide **25**, l'homodéoxyHT **6**, l'HHT-*N*-oxyde **48**, et le bis-céphalezomine A **54** qui ont été isolés à partir des feuilles de *Cephalotaxus harringtonia* forma *fastigiata* (Figure 12 et 13). Quatre nouveaux alcaloïdes oxygénés ont été caractérisés de *C. harringtonia* var. *drupacea* par Takano et al.,⁵⁰ la 11 α -hydroxy-homodéoxyharringtonine **49**, la 11 β -hydroxy-homodéoxyharringtonine **50** et la 11 β -hydroxy-déoxyharringtonine **51**.



*: Rendement à partir des feuilles de *C. harringtonia* var. *nana*

Figure 12

e) Les dimères du genre *Cephalotaxus*

Le premier alcaloïde dimère *Cephalotaxus*, la céphalotaxidine **53** a été isolée de *C. harringtonia* var. *drupacea* par Takano et al.⁵¹ C'est un dimère de l'HHT **2** avec une valeur de la CI_{50} de 1,8 μ g/mL contre les cellules de la leucémie P-388. Plus récemment, Kobayashi et

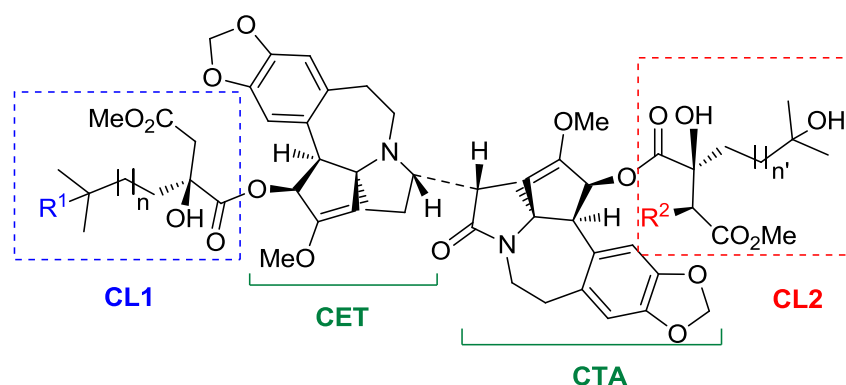
49 H. Morita, Y. Nagahura, T. Hosoya, W. Ekasari, A. Widyawaruyanti, K. Mori-Yasumoto, S. Sekita, Y. Hirasawa, *Heterocycles*, **2010**, 81, 441-450.

50 I. Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, *J. Nat. Prod.*, **1996**, 59, 1192-95.

51 I. Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, Y. Hitotsuyanagi, K. Takeya, H. Itokawa, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, 37, 7053-7054.

ses collègues ont isolé cinq nouveaux alcaloïdes dimères de *C. harringtonia* var. *nana*, surtout hétérodimères, nommés bis-céphalezomines A-E **54-58** (Figure 13).⁵²

Les alcaloïdes qui constituent les dimères (HHT, HT, céphalezomine A et déoxyHT) montrent une puissante activité cytotoxique alors que la cytotoxicité des dimères contre les cellules de lymphome murin L1210 est relativement faible, avec des valeurs de CI_{50} de 1,9 à 3,7 $\mu\text{g/mL}$.^{52a}



			CL1-CET-CTA-CL2
53 Céphalotaxidine:	$n = n' = 1$,	$R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{H}$	HHT- CET- CTA - HHT
54 Bis-céphalezomine A:	$n = 2$, $n' = 1$,	$R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{H}$	HHT- CET- CTA - HT
55 Bis-céphalezomine B:	$n = 1$, $n' = 2$,	$R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{H}$	HT- CET- CTA - HHT
56 Bis-céphalezomine C:	$n = n' = 1$,	$R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{H}$	HT- CET- CTA - HT
57 Bis-céphalezomine D:	$n = 2$, $n' = 1$,	$R^1 = \text{OH}$, $R^2 = \text{OH}$	HHT- CET- CTA - isoHT
58 Bis-céphalezomine E:	$n = 1$, $n' = 1$,	$R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{H}$	déoxyHT- CET- CTA - HT

CET : céphalotaxine, CTA : céphalotaxinamide, CL chaîne latérale.

Figure 13

En conclusion, les céphalotaxanes **59** sont des alcaloïdes particuliers extraits de la famille *Cephalotaxaceae* qui présentent une formule générale dérivée du squelette céphalotaxane **60** (Figure 14). Le terme céphalotaxane se réfère à des composés ou des sels qui ont un squelette de base où n est égal à 1 ou 2 (avec deux unités identiques ou différentes liées par une liaison simple), qui peut contenir divers substituant oxygénés (des éthers aliphatique ou aromatiques, des alcools libres ou estérifiés, des énols substitués ou libres et ou des phénols, etc....

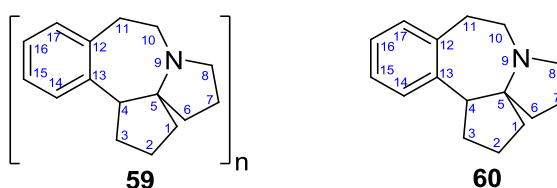


Figure 14: Le squelette céphalotaxane

52 M. Yoshinaga, H. Morita, T. Dota, J.'i. Kobayashi, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 7861-7868.

3) Alcaloïdes de type homoérythrina

Les composés de type C-homoérythrina qui possèdent le squelette homoérythrinane sont retrouvés typiquement dans *Schelhammera pedunculata* F Muell, *S. multiflora* R. Br.,^{53,54} et dans *Phelline cosma* Labill.⁵⁵ Ils ont été signalés pour la première fois dans les espèces *Cephalotaxus* en 1972 par Powell⁵⁶ mais très peu d'exemples de ces alcaloïdes ont été isolés dans ces arbres. Ces composés sont minoritaires à l'exception de *C. wilsoniana* où ils représentent 45% de la teneur totale en alcaloïdes (contre 29% pour les alcaloïdes apparentés à céphalotaxine).⁵⁷

Powell isole 5 alcaloïdes mineurs de *C. harringtonia* K. Koch var *harringtonia*: l'épi-schelhamméricine B **62** et la 3-épi-schelhamméricine **63**, qui ont été isolées de *C. harringtonia* var. *nana* par Kobayashi et ses collaborateurs,³⁶ la schelhamméricine B **62**, la méthylschelhamméricine B **64** et son épimère en C3, la 3-épi-méthylschelhamméricine B **65** (Figure 15). La wilsonine **66** et la 3-épi-wilsonine **67**⁵⁵ sont les alcaloïdes majeurs de *C. wilsoniana* Hayata.⁵⁷ La 3-épi-wilsonine **69** (3 g) et l'homoérythrinane **65** (1,4 g) (ainsi que la 3-épi-schelhamméricine **63** (40 mg)) se retrouvent également majoritaires dans la variété récoltée à Formose alors que la drupacine **27** (1,5 g) et la céphalotaxine **1** (20 mg) sont minoritaires.⁵⁸

La recherche d'alcaloïdes dans les rameaux et feuilles de *Cephalotaxus fortunei* a permis la découverte de la fortunéine **68**,⁵⁹ précédemment trouvée dans *Schelhammera*.⁵⁴ La céphalezomine M **70** présentant une activité cytotoxique moyenne a été extraite à partir des feuilles de *C. harringtonia* var. *harringtonia* (Tableau 4).³⁹ D'autres activités sont plus intéressantes, par exemple, la wilsonine **66** est un agent antileucémique et la 3-épi-schéllhamméricine **63** est un puissant molluscicide. Plus récemment, la C-3-épi-wilsonone **69** a été isolée par Lin et collaborateurs à partir des feuilles et de cœur du bois de *C. wilsoniana*.⁶⁰ Elle a montré une faible activité cytotoxique (CI₅₀ d'environ 50 µg/mL) contre plusieurs lignées cellulaires de cancer humain.

53 J. S. Fitzgerald, S. R. Johns, J. A. Lamberton, A. A. Sroumis, *Austral. J. Chem.*, **1969**, 22, 2187-2201.

54 (a) S. R. Johns, J. A. Lamberton, A. A. Sroumis, H. Soares, *Austral. J. Chem.*, **1969**, 22, 2203. (b) S. R. J. Johns, J. A. Lamberton, A. A. Sroumis, *Austral. J. Chem.*, **1969**, 22, 2219.

55 N. Langlois, B. C. Das, P. Potier, L. Lacombe, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1970**, 3536.

56 R. G. Powell, *Phytochemistry*, **1972**, 11, 1467-1472.

57 R. G. Powell, K. L. Mikolajczak, D. Weisleder, C. R. Smith Jr., *Phytochemistry*, **1972**, 11, 3317-3320.

58 H. Furukawa, M. Itoigawa, M. Haruna, Y. Jinno, K. Ito, *Yakugaku Zasshi*, **1976**, 96, 1373-1377.

59 G.-E. Ma, C. Lu, H. N. ElSohly, M. A. ElSohly, C. E. Turner, *Phytochemistry*, **1983**, 22, 251-253.

60 L.-W. Wang, H.-J. Su, S.-Z. Yang, S.-J. Won, C.-N. Lin, *J. Nat. Prod.*, **2004**, 67, 1182-1185.

Tableau 4: Cytotoxicité de la céphalezomine *M* et des alcaloïdes de type Homoérythrina contre la lymphome murin L1210 et les cellules de carcinome épidermoïde humain KB^{39,36,21}

Composés	CI ₅₀ (µg/mL)	
	L1210	KB
Homoharringtonine 2	0,00688	-
Epischelhamméricine B 62	3,7	1,3
Epischelhamméricine 63	0,84	0,61
Céphalezomine M 70	> 30	13

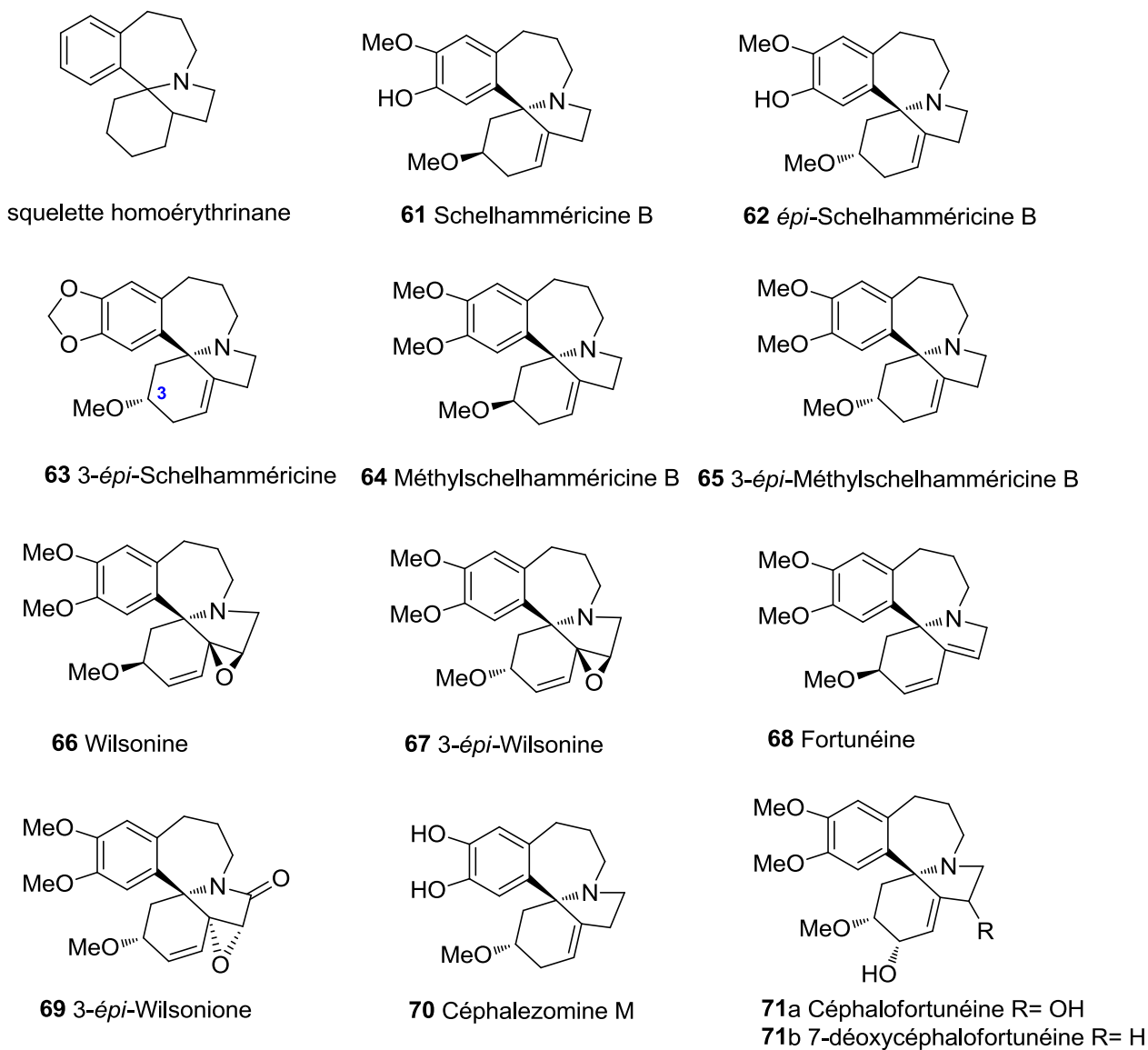


Figure 15

De tous les homoérythrinanes isolé de *Cephalotaxus*, seule la céphalofortunéine **71** isolée de *C. fortunei* possède des groupes hydroxyles supplémentaires sur le cycle D.⁶¹ Les alcaloïdes isolés de *C. harringtonia* var. *nana* appartiennent à cinq groupes: le type « céphalotaxine » avec une chaîne latérale (HT **3**, isoHT **4**, déoxyHT **5** et homodéoxyHT **6**, les céphalozémines C-F **16-19**), ou sans (CET **1**, desméthylCET **23**, et 11-hydroxyCET **26**) le type « drupacine » avec une chaîne latérale (céphalezomine A **45** et céphalezomine A **46**) ou sans (drupacine **27**), et le type « homoérythrina » (*épi*-schelhamméricine B **62** et *épi*-schelhamméricine **63**)³⁶ (Figure 15).

Ainsi, les 66 composés isolés à ce jour de *Cephalotaxus* se répartissent en 2 classes structurales d'alcaloïdes: 55 composés sont apparentés à la céphalotaxine **1** et **11** appartiennent à la classe des C-homoérythrinanes.

A l'heure actuelle, les plantes du genre *Cephalotaxus* sont des espèces menacées et pour faire face à la menace d'extinction, seules les parties renouvelables de la plantes sont utilisées pour l'extraction d'alcaloïdes. A titre d'exemple, l'utilisation de méthodes modernes d'extraction permet d'obtenir jusqu'à 2 kg de la céphalotaxine pure à partir d'une tonne de feuilles sèches, soit 0,2% de la matière sèche.⁶² La proportion des quatre principaux esters naturels possédant des activités antitumorales est comprise entre 0,7% (dans les aiguilles de *C. fortunei*) et jusqu'à 36% (dans les racines de *C. harringtonia* var. *harringtonia*) de la quantité totale d'alcaloïdes, cette plante étant la meilleure source naturelle pour ces quatre composés d'intérêt pharmacologique.

4) Structure des alcaloïdes de type *Cephalotaxus*

a) Structure de la céphalotaxine

La céphalotaxine **1** est un solide blanc cristallin (point de fusion = 135-136 °C), elle est modérément basique (pKa = 8,95 dans EtOH 95%), et est optiquement active et lévogyre : -204° ($[\alpha]_D^{25}$ c 1,8 CHCl₃).⁴

Dès 1963, Paudler a entrepris d'élucider la structure de cet alcaloïde par combinaison de données spectrométriques (ultra-violet, infra-rouge et résonance magnétique nucléaire du proton), chimiques et par comparaison avec les données spectroscopiques de la lycorine **72**.

61 (a) G.-E. Ma, L. T. Lin, T. Y. Chao, H. C. Fan, *Acta Pharm. Chemica Sinica*, **1977**, 35, 201. (b) G.-E. Ma, L. T. Lin, T. Y. Chao, H. C. Fan, *Acta Pharm. Chemica Sinica*, **1978**, 36, 129.

62 (a) J.-P. Robin, communication privée. (b) T. Kallimopoulos, **2012**, United States Patent 20120172590 (extraction avec huile végétale/Na₂CO₃ aqueux, rendement 5%, pureté 26%) [<http://www.freepatentsonline.com/y2012/0172590.html>]. (c) Y. H. Choi, J. Kim, J. Y. Kim, S. N. Joung, K. P. Yoo, Y. S. Chang, *Arch. Pharm. Res.*, **2000**, 23, 163-6 (scCO₂+MeOH-10%Et₂NH, 0,0029%, pureté non décrite).

Ses études le conduisent à la formule brute $C_{18}H_{21}NO_4$ et à la présence d'une double liaison $C=C-OMe$ (bande à 1653 cm^{-1}), d'un groupement méthylènedioxy (bandes à 1037 et 931 cm^{-1}), d'une fonction hydroxyle secondaire (bande à 3500 cm^{-1}) et d'un noyau aromatique tétrasubstitué. A l'aide de ces informations, McKay a proposé en 1966 dans sa thèse de doctorat la formule **73** (Figure16).⁶³

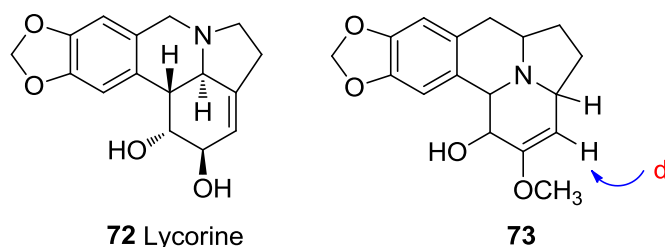


Figure 16

En 1969, Powell et collaborateurs notent que dans la structure **73**, le proton oléfinique devrait apparaître sous la forme d'un doublet alors que le spectre RMN du proton de la céphalotaxine montre un singlet à un déplacement de $4,89\text{ ppm}$. Ainsi, ils reconsidèrent la structure **73** et proposent les structures **74** et **1** dans lesquelles la double liaison $C=C$ est adjacente à un centre tétrasubstitué (Figure 17) et le carbone C3 est lié soit à C11 (**74**) soit à C4 (**1**).

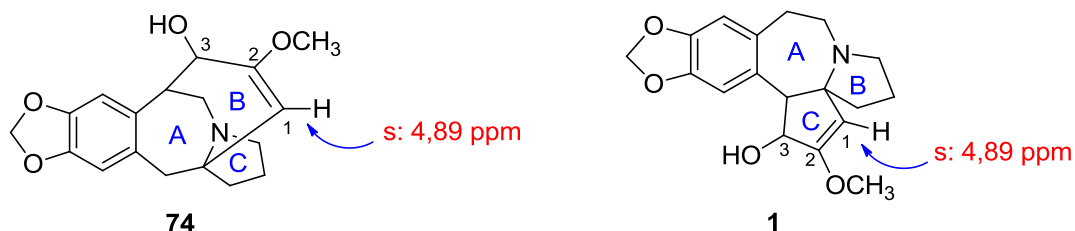


Figure 17

La même année, Abraham a confirmé la structure **1** par analyse cristallographique de l'iodométhylate de céphalotaxine **75**, obtenu sous forme de cristaux monocliniques (Figure 18).^{3b} Le système cyclique comporte un cycle à 7 chaînes (B) fusionné à deux cycles à cinq chaînons (C et D).

63 J. McKay, *PhD. Thesis*, **1966**, Ohio Univ., Athens, USA.

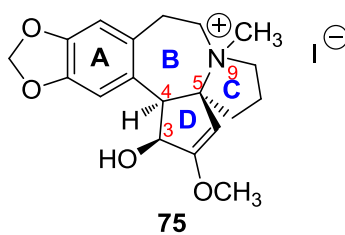


Figure 18

Abraham a remarqué que les cristaux **75** se présentent sous la forme d'un racémate, alors que la céphalotaxine naturelle de départ est optiquement active. La racémisation d'une molécule chirale comportant trois centres asymétriques n'est pas courante mais peut-être expliquée par la rupture de la liaison C₅-N₉, qui peut se produire lors de la solubilisation à chaud dans le méthanol de la céphalotaxine **1**, alors la rupture de cette liaison conduit au carbocation **76**. L'équilibre qui s'établit entre l'iodométhylate **75** et les différentes formes ouvertes macrocycliques de type **76** conduits à la racémisation du produit **75** (Schéma 2).

On peut mentionner à ce propos l'isolement de céphalotaxine naturelle partiellement racémisée (ee ~ 85 %) dans certains plants de *C. fortunei* provenant de la province de Fujian en Chine.⁶⁴ La stéréochimie de la céphalotaxine **1**, qui possède 3 centres asymétriques contigus en C₃, C₄ et C₅, a été déterminée par diffraction des rayons X sur le *para*-bromobenzoate de céphalotaxine **77** (recristallisé dans l'éther sans chauffage) qui a révélé la configuration absolue (3*S*,4*S*,5*R*)⁶⁵ pour les trois atomes de carbone contigus (Figure 19).

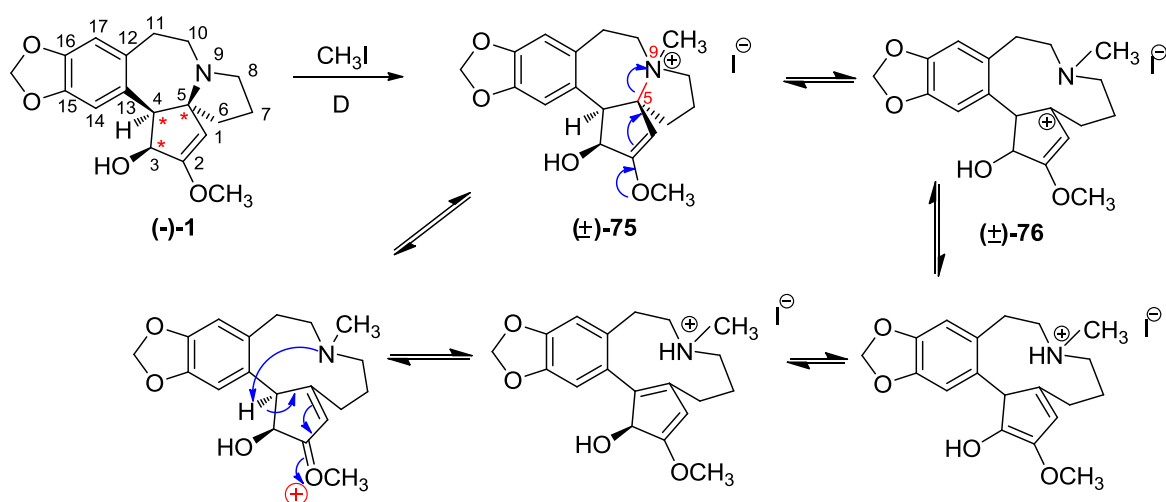
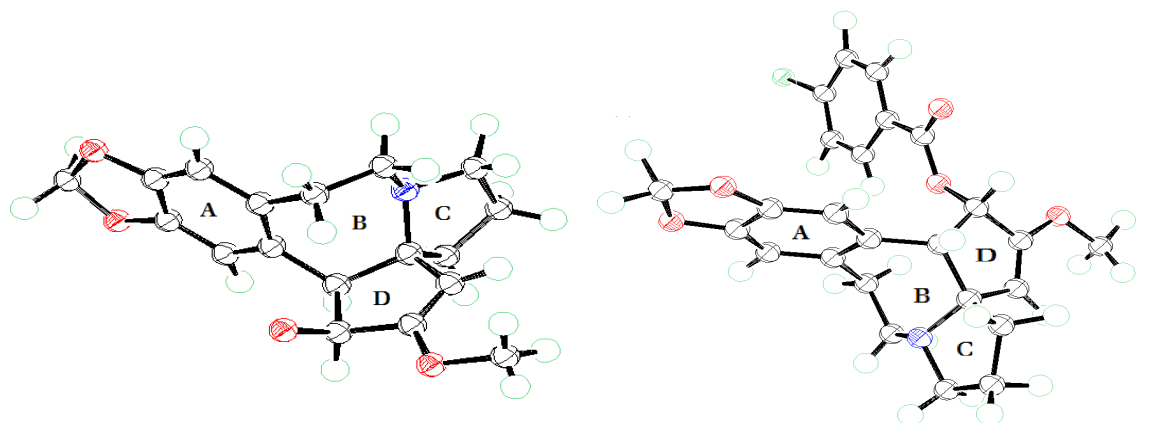


Schéma 2: Mécanisme de racémisation de la céphalotaxine

64 W. Huang, Y. X. Li, Pan. *Sci. Sin.*, (Engl. Ed.), **1980**, 23, 835.

65 S. K. Arora, R. B. Bates, R. A. Grady, R. G. Powell, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 1269-1271.

Finalement, des études cristallographiques ultérieures, également menées par Powell, ont permis d'obtenir la structure moléculaire de la CET1 et ont confirmé la configuration absolue établie auparavant (Figure 19).⁶⁶



Cépalotaxine 1 p-Bromobenzoate de cépalotaxine 77
Figure 19: Structures cristallographiques de la cépalotaxine et du para bromobenzoate de cépalotaxine.

b) Biogénèse des alcaloïdes de type cephalotaxus

La présence d'alcaloïdes de type *Homoérythrina* dans les plantes du genre *Cephalotaxus* suggère une voie biosynthétique commune aux deux séries. Les travaux de Barton avaient établi que les alcaloïdes de type *Erythrina* proviennent d'un précurseur de type 1-benzyl-1,2,3,4-tétrahydroisoquinoléine **79**, lui même étant probablement issu de deux molécules de tyrosine **78** (Schéma 3).⁶⁷

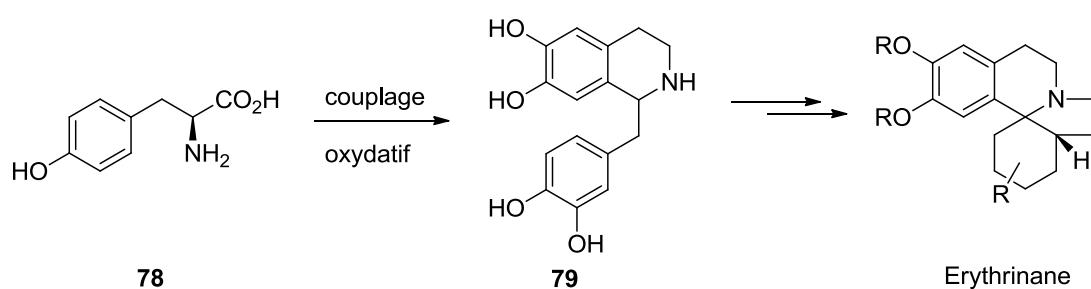


Schéma 3

Fitzgerald a étendu ce concept aux alcaloïdes de type *Homoérythrina* évoquant, cette fois-ci, un intermédiaire de type 1-phényléthyl-1,2,3,4-tétrahydroisoquinoléine **81** provenant

⁶⁶ S. K. Arora, R. B. Bates, R. A. Grady, G. Germain, J.-P. Declercq, R. G. Powell, *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 551-554.

⁶⁷ D. H. R. Barton, D. A. Widdowson, In *Symposiumsberichte. IV: Internationales Symposium, Biochemie und Physiologie der Alkaloide* K. Motéhs, K. Schreiber, H. R. Scütter, Eds., Akademie-Verlag: Berlin, **1969**, 7.

du couplage oxydatif de deux molécules de tyrosine **78** ou de phénylalanine **80**.⁵³ Une réaction de couplage phénolique de **81** suivie d'une fragmentation conduirait au composé tricyclique **82**. Ce dernier peut ensuite, conduire aux homoérythrinanes (voie **a**), via le composé **83** (Schéma 4). En 1972, Powell reprend ce schéma et propose une fermeture de cycle selon la (voie **b**) permettant de conduire à la céphalotaxine **1** via l'ènedione **84**.⁵⁶ Cette séquence suppose une oxygénation poussée des noyaux aromatiques de la tyrosine et de la phénylalanine, devant favoriser d'une part le couplage oxydatif des acides aminés et, d'autre part, la contraction de cycle permettant de conduire à la céphalotaxine **1** (Schéma 4). Quelques années plus tard des expériences de marquage isotopique réalisées par Parry ont confirmé cette hypothèse.^{68, 69, 70, 71} Celles-ci consistaient à nourrir les jeunes plants de *Cephalotaxus* avec de la (*L*)-tyrosine **78** ou de la (*L*)-phénylalanine **80** sélectivement marquée, puis à extraire, à isoler et à dégrader les molécules bio-synthétisées en molécules plus simples. Une mesure de leur radioactivité permet de déterminer leur origine.

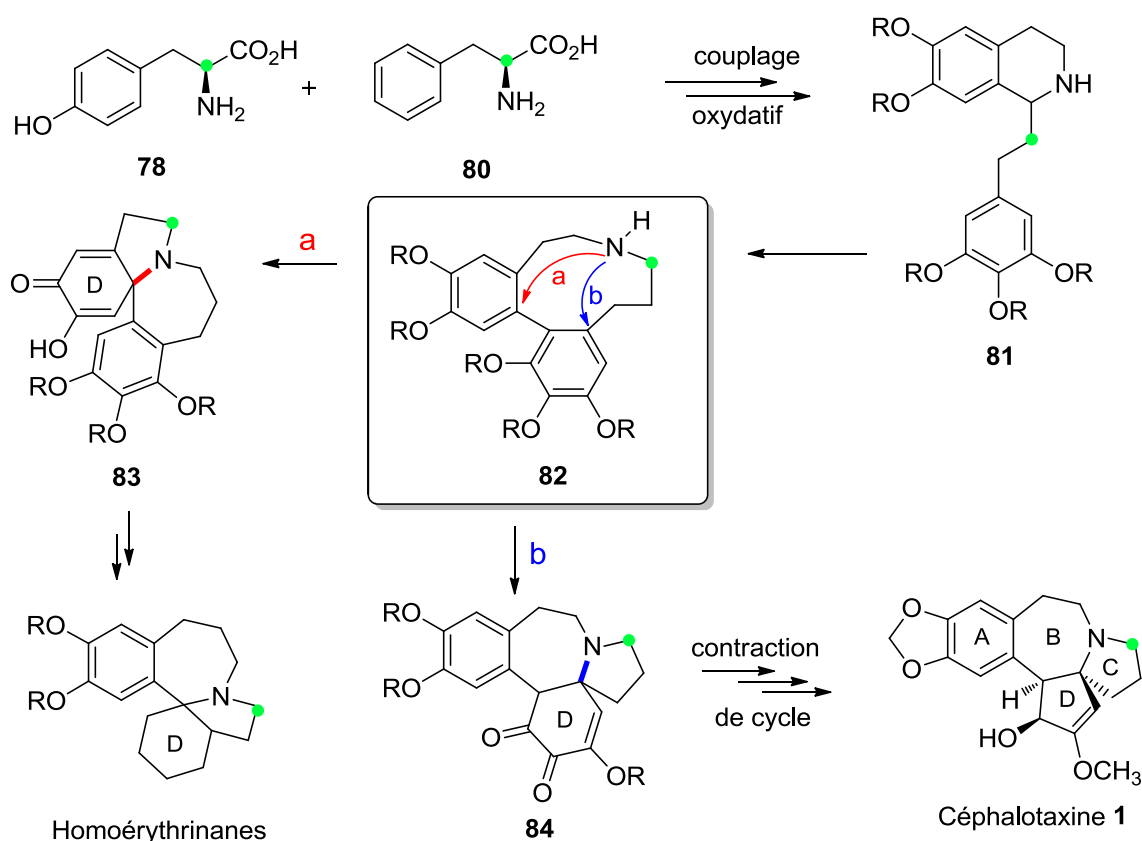


Schéma 4

68 R. J. Parry, "Biosynthesis of the Cephalotaxus alkaloids" dans *Topics in the biochemistry of natural products*, Plenum Publishing Corp., New York, **1979**, pp 55-84.

69 R. J. Parry, J. M. Schwab, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 2555-2557.

70 J. M. Schwab, M. N. T. Chang, R. J. Parry, *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 2368-2370.

71 R. J. Parry, M. N. T. Chang, J. M. Schwab, B. M. Foxman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 1099-1111.

Ainsi, Parry a montré que l'intermédiaire 1-phényléthyltétrahydroquinoléine **81** de « type Fitzgerald » est issu d'une molécule de tyrosine **78** et d'une molécule de phénylalanine **80**. Parry a aussi montré que le cycle A et les atomes C₁₁ et C₁₀ de la céphalotaxine **1** proviennent respectivement du cycle aromatique et des atomes C₃ et C₂ de la tyrosine **78**, et que le cycle D et les atomes C₈, C₇ et C₆ du cycle C de la céphalotaxine **1** proviennent respectivement du cycle aromatique et des atomes C₁, C₂ et C₃ de la tyrosine **78** (Schéma 5).⁷⁰

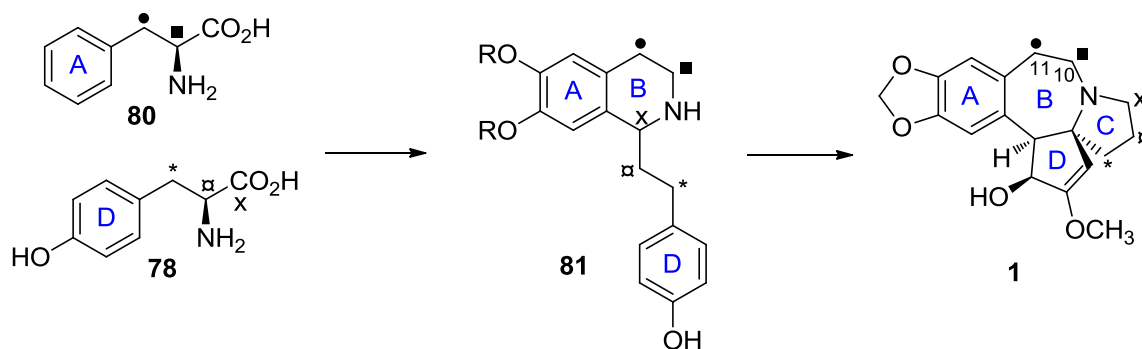


Schéma 5

La contraction du cycle D de **85**, conduisant à la céphalotaxine **1**, pourrait se faire selon un réarrangement benzylique. Le mécanisme exact de cette réaction a été établi par marquage régiospécifique du noyau aromatique de la phénylalanine **80**. Ainsi, il a été observé qu'en utilisant de la phénylalanine marquée en position *méta*, la céphalotaxine est obtenue avec une perte de radioactivité de l'ordre de 50%, ce qui correspond à la perte d'un atome de carbone aromatique « *méta* ». Le mécanisme de ce réarrangement procède donc de l'addition d'une molécule d'eau en C₄, suivie du départ d'une molécule de CO₂ conduisant à la céphalotaxine **1** (Schéma 6).⁷⁰

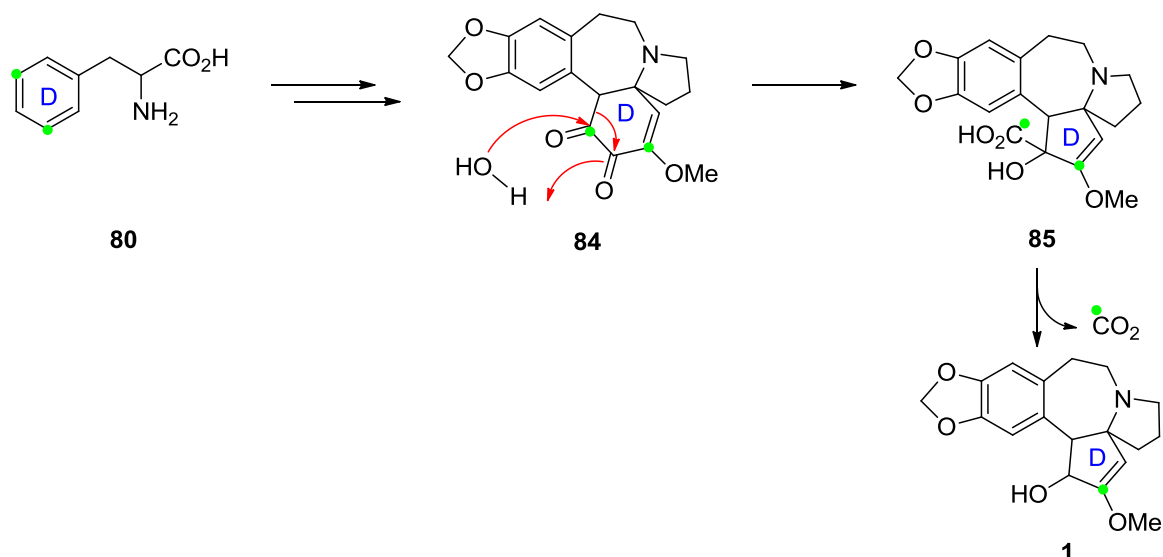


Schéma 6

c) Structure des esters naturels de la céphalotaxine

Les structures des quatre principaux esters naturels de la céphalotaxine possédant des propriétés antitumorales (HHT **2**, HT **3**, isoHT **4** et déoxyHT **5**) ont été établies par différents chercheurs entre 1970 et 1972.⁷² La détermination de leur structure a été réalisée par dégradation des molécules naturelles. Ainsi, la méthanolyse de l'HHT **2**, l'HT **3**, l'isoHT **4** et la déoxyHT **5** conduisent dans chaque cas à la céphalotaxine **1**, accompagnée respectivement des esters diméthyliques **86**, **87**, **88** et **89** (Schéma 7). Les structures de ces diesters ont été déterminées sur la base de leurs données spectrométriques (RMN ^1H et ^{13}C , IR, masse) puis ont été confirmées par leurs synthèses respectives. Ainsi, les esters naturels de la céphalotaxine proviennent du couplage de la céphalotaxine **1** avec des chaînes latérales dont les formes diesters sont **86** (HHT), **87** (HT), **88** (isoHT) et **89** (déoxyHT).

⁷² R. G. Powell, D. Weisleder, C. R. Smith Jr., W. K. Rohwedder, *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 815-818.

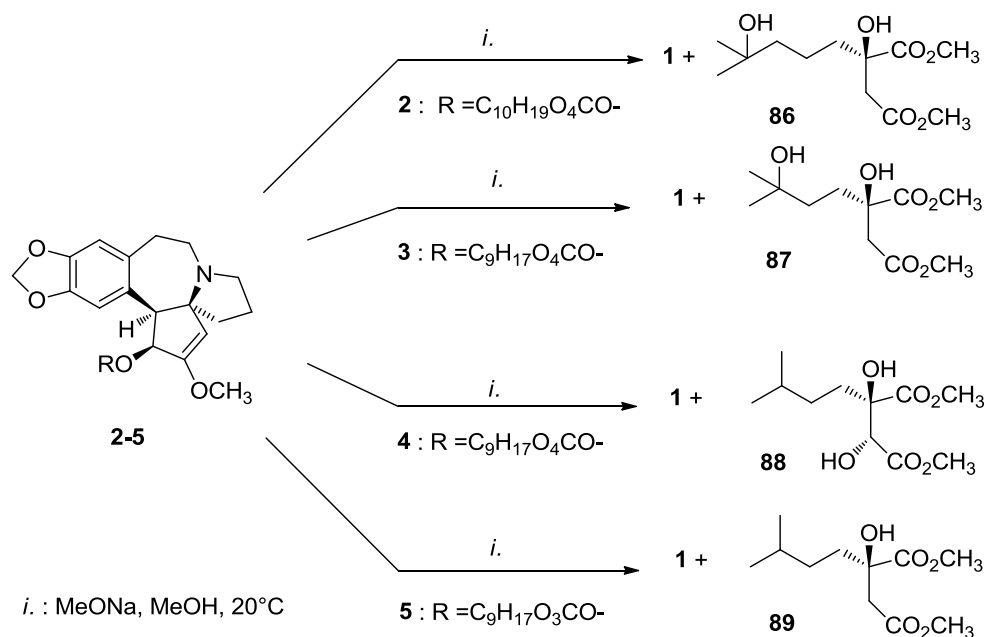


Schéma 7

En synthétisant les monoacides **90** et **91**, Mikolajczak a montré que c'est la fonction carboxylique tertiaire (4') de ces chaînes latérales qui est impliquée dans la réaction d'estérification avec la céphalosporine **1**. En effet, la réaction du chlorure d'acide dérivé de **90** avec la céphalosporine **1** conduit à un mélange de diastéréoisomères de la pseudodéoxyharringtonine **92** dont les données spectrométriques diffèrent de la déoxyHT **5** naturelle (Schéma 8). La même réaction avec l'autre monoacide **91** ne conduit à aucun produit de couplage.

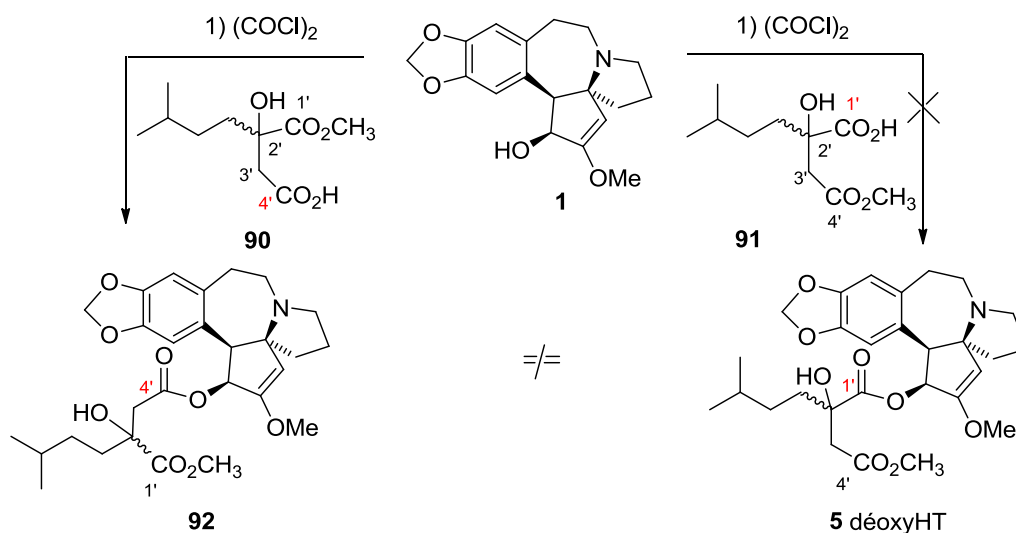


Schéma 8

Les configurations absolues des chaînes latérales des quatre principaux esters naturels ont été déterminées par des études de dichroïsme circulaire par Brändänge.^{73,74} Ces travaux se basent sur la comparaison des spectres de dichroïsme circulaire des complexes d'ions molybdate des chaînes latérales sous leur forme diacide avec les complexes correspondants de diacides de structure voisine et de stéréochimie connue. Ainsi, la configuration (2*R*) a été attribuée aux diacides **93**, **94** et **95**, dérivés respectivement de l'HHT **2**, de l'HT **3** et de la déoxyHT **5** car ils présentent un effet Cotton opposé à celui de l'acide (*S*)-citramalique **92**. De même, la configuration (2*R*, 3*S*) a été attribuée au diacide *érythro* **97**, dérivé de l'isoHT **4**, car il présente le même effet Cotton que l'acide piscidique *érythro* (2*R*, 3*S*) **96** (Figure 20). Il ressort de ces études que le centre tétrasubstitué des chaînes latérales des esters naturels de la céphalotaxine est de configuration (*R*).

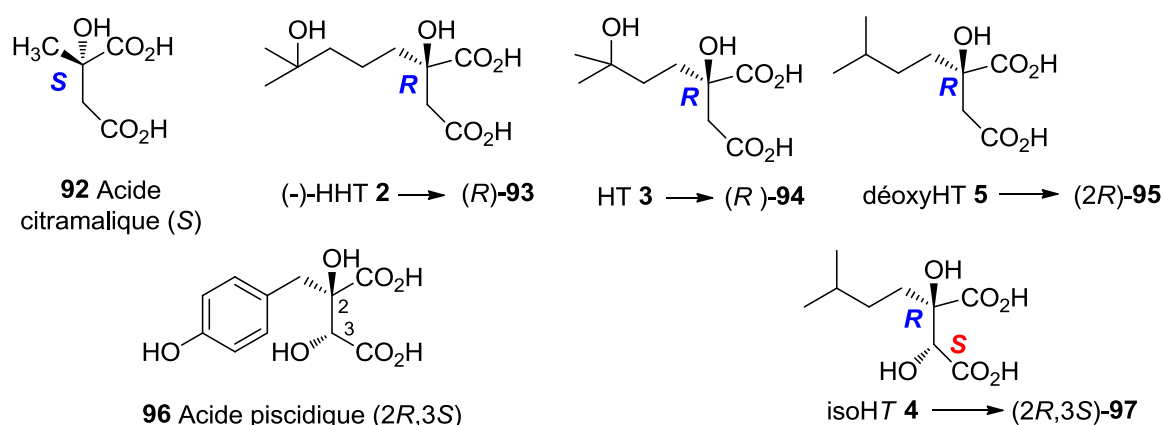


Figure 20

5) Purification et analyse de la céphalotaxine et de ses esters

Tout d'abord, il convient de noter que l'utilisation de la céphalotaxine **1** comme source pour l'hémisynthèse des harringtonines n'a pas encore été économiquement justifiée, aucun processus d'extraction sélectif de cette substance n'ayant été décrit jusqu'à récemment.

La céphalotaxine naturelle recristallisée dans le benzène ou dans l'éther est présente dans la plante sous forme partiellement racémisée,¹⁶ avec un pouvoir rotatoire de -204° ($[\alpha]_D^{25}$, c 1,8 CHCl_3).^{63,4} Une HHT **2** d'origine hémisynthétique de haute pureté énantiomérique impliquera de séparer la 3-*épi*-HHT **98** de l'épimère actif, l'HHT **2** (Figure 21), aucun couplage stéréosélectif avec la chaîne latérale de l'HHT n'étant actuellement décrit. Le pouvoir rotatoire correspondant à une pureté énantiomérique supérieure à 99 % est

73 S. Brändänge, S. Josephson, S. Vallen, *Acta Chem. Scand. Ser. B*, **1974**, 28, 153-156.

74 S. Brändänge, S. Josephson, S. Vallen, R. G. Powell, *Acta Chem. Scand. Ser. B*, **1974**, 28, 1237-1238.

de -194° ($[\alpha]^{20}_{\text{D}}$, c 1,02 CHCl_3).⁷⁵ Il est donc nécessaire de purifier la CET **1** à la fois chimiquement et stéréosélectivement, et de vérifier la pureté énantiomérique de la céphalotaxine issue de la plante, par RMN en présence de réactif de shift chiral par exemple.¹⁶

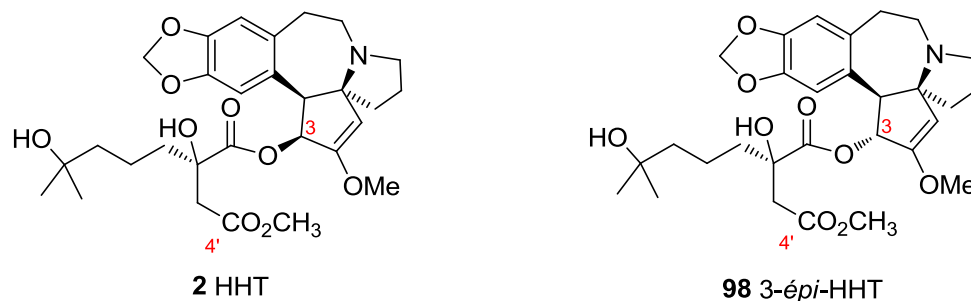


Figure 21

a) Analyse chromatographique, purification et stabilité de la céphalotaxine

La recherche de céphalotaxine comme matière première a stimulé l'étude de cultures de *Cephalotaxus*, et le développement de méthodes d'analyse de la composition des différents plants. Ainsi un protocole par HPLC a permis de déterminer le contenu en CET, HT et HHT de cultures de racines et de cal de *C. harringtonia*. Comme attendu, la céphalotaxine est l'alcaloïde majoritaire (10 mg/kg de matière sèche) alors que l'HT et l'HHT sont plus présentes dans la culture de racines (6,6 et 7,5 mg/kg).⁷⁶

Une étude récente de Robin présente une méthode d'isolement et de purification de la (-)-céphalotaxine à partir d'extract d'alcaloïdes bruts.⁷⁷ La purification de la céphalotaxine est réalisée pour la première fois par chromatographie HPLC en phase inverse. Le brut (24,5 g contenant 71% de CET **1**) extrait de 10 kg de feuilles de *C. sp.* est dissout dans une phase mobile constituée d'acide *ortho*-phosphorique et d'eau désionisée contenant 1,55% de triéthylamine pour ajuster le pH à 3. L'ajout d'additif acide rend nécessaire l'alcalisation de la phase aqueuse obtenue et son extraction au dichlorométhane. Ainsi, la (-)-CET **1** (18 g) est intégralement récupérée à partir du brut alcaloïdique sous forme d'un solide blanc avec une pureté HPLC supérieure à 95%.

Plus récemment, l'équipe de Li de l'université de Nankai a proposé une méthode d'obtention de céphalotaxine de très haute pureté énantiomérique (99%).⁷⁵ Le brut alcaloïdique est dissout dans un mélange eau/dichlorométhane et une purification acide/base

⁷⁵ W. Li, L. Chen, CN 101492455, 3 mars 2009 (Université de Nankai, Chine).

⁷⁶ (a) E. R. M. Wickremesinhe, R. N. Artica, *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.*, **1996**, 19, 889-897. (b) S. Gao, L. Lin, *Yaowu Fenxi Zazhi*, **1999**, 19, 103-105.

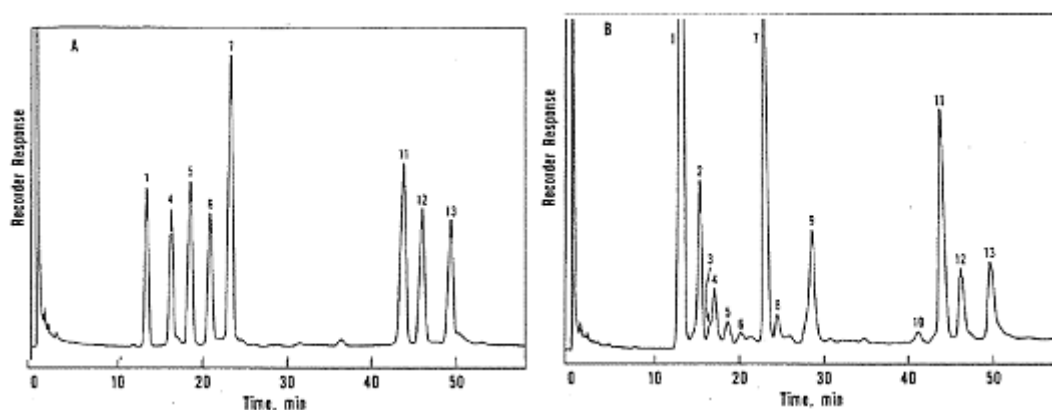
⁷⁷ J.-P. Robin, J. Blanchard, J.-P. Marie, N. Radosevic, *U. S. Patent.*, 7, 842, 687, 30 novembre **2010**.

est effectuée avec une extraction à l'éther de la phase basique puis cristallisation de la CET obtenue dans l'éther.

b) Analyse chromatographique et stabilité de l'HHT

L'HHT est isolée du genre *Cephalotaxus* avec au moins dix autres analogues qui ont été identifiés d'extraits bruts de *Cephalotaxus*. Un candidat médicament doit avoir idéalement une pureté élevée et constante. D'autre part, il est nécessaire de pouvoir contrôler sa pureté, notamment pour les études pharmacologiques, et pour contrôler les lots d'HHT pour l'utilisation thérapeutique.

Powell et collaborateurs ont réalisé une analyse quantitative de mélanges complexes d'alcaloïdes extraits de *Cephalotaxus* par chromatographie en phase gazeuse GC. La nature des différents composés a été déterminée par spectrométrie de masse MS qui a permis d'identifier presque tous les composés détectés, particulièrement les esters antitumoraux actifs HHT **2**, HT **3**, isoHT **4** et déoxyHT **5** (Figure 22, pics **13**, **12**, **11** et **10** resp.).⁷⁸ Les facteurs de réponse chromatographique ont été déterminés par l'analyse de solutions de référence de la CET **1**, l'HT **3**, la déoxyHT **5**, l'isoHT **4**, la drupacine **27**, la 11-hydroxyCET **26**, la wilsonine **67** et d'un standard interne SI, l'acide tetracosanoïque (C_{24:0}), en concentrations connues. Dans ces conditions, tous les composés sont séparés les uns des autres et en particulier, que les esters actifs sont complètement séparés dans ces conditions.



Pics : **1**: CET **1** ; **2**: Schelhaméricine B **62**, *épi*-schelhaméricine B **63** et homoérythrinanes **65** et **66** ; **3**: Artefact issu de la silylation de la céphalotaxinone **22** ; **4**: drupacine **27** ; **5**: 11-hydroxycéphalotaxine **26** ; **6**: homoérythrinanes **67** et **68** ; **7**: SI (C_{24:0}) ; **8**: céphalotaxinone **22**, **9**: alcaloïde non identifié ; **10**: déoxyHT **5** ; **11**: isoHT **4** ; **12**: HT **3** ; **13**: HHT **2**.

Figure 22: Comparaison des chromatogrammes des échantillons de référence (A) et d'un extrait de plante (B).

78 G. F. Spencer, R. D. Plattner, R. G. Powell, *J. Chromatography A*, **1976**, *120*, 335-341.

Chaque composé donne un spectre unique en spectrométrie de masse, à l'exception des composés de type C-homoérythrina. Les homoérythrinanes **65** et **66** présentent des spectres pratiquement identiques. De tous les composés étudiés, seuls la 11-hydroxyCET **26** et les esters de CET ne donnent pas d'ions moléculaires intenses, la présence de deux groupes hydroxyle dans le dérivé 11-hydroxyCET **26** a peut-être réduit sa stabilité et bien que les esters de CET aient donné un faible ion moléculaire, aucun ion n'a été détecté à $(M-15)^+$.

Cette méthode a permis une analyse des différents pourcentages des alcaloïdes extraits à partir de plusieurs types de *Cephalotaxus* analysées par plusieurs équipes dans le monde entier. A quelques exceptions près, la CET **1** est l'alcaloïde prédominant. Le *C. harringtonia* var. *drupacea* peut aussi contenir des quantités substantielles de drupacine **27**, tandis que *C. wilsoniana* est particulièrement riche en alcaloïdes de type C-homoérythrina comme la wilsonine **67** et l'**épi**-wilsonine **68**, par contre *C. harringtonia* var. *harringtonia* est toujours riche en esters antitumoraux actifs **2-5**.

La technique de chromatographie liquide haute performance (HPLC) a été utilisée pour la séparation des alcaloïdes dérivés de la céphalotaxine dans des extraits des plantes. Cependant, en raison de la complexité des extraits d'alcaloïdes, il est imaginable que des analogues supplémentaires l'HHT peuvent toujours être non séparés. C'est pourquoi des recherches actives sont menées pour les détecter et les analyser.

Une méthode d'analyse quantitative par HPLC permet de détecter la présence d'HHT **2** dans le sang à des taux extrêmement bas, de l'ordre du ng /mL.⁷⁹

Plus récemment, He et collaborateurs⁸⁰ ont mis au point une méthode d'analyse par HPLC pour l'HHT. L'essai révèle trois congénères présents comme impuretés dans les échantillons d'HHT, dont deux sont nouveaux, le troisième étant l'HT **3**. L'analyse de l'HHT par HPLC a été effectuée avec une colonne ODS (octadécyl-silane) en utilisant un mélange méthanol: eau (50:45, v:v) contenant de l'ammoniaque à 1% comme phase mobile. L'utilisation de NH₄OH dans la phase mobile, qui a abouti au pH 10,5 de la solution aqueuse, devait raccourcir la traîne du pic et améliorer la forme du sommet du pic d'HHT. Malheureusement, il a aussi causé la détérioration prématurée de la colonne ODS. Dans un effort d'amélioration de la durée de vie de la colonne, les conditions de HPLC ont été modifiées pour réduire l'alcalinité de la phase mobile. L'acétonitrile (ACN) utilisé à la place du MeOH améliore la séparation par HPLC. Cet essai révèle une impureté supplémentaire,

79 Y. P. Chan, F. W. Lee, T. S. Siu, *J. Chromatogr.*, **1989**, 496, 155-166.

80 J. He; A. P. Cheung; E. Wang, E. Struble, K. Fang, N. Nguyen; P. Liu, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2000**, 22, 541-554.

l'impureté **c**, qui était confondue dans le pied du pic de l'HHT (**a**) dans la méthode utilisant le MeOH (Figure 23).

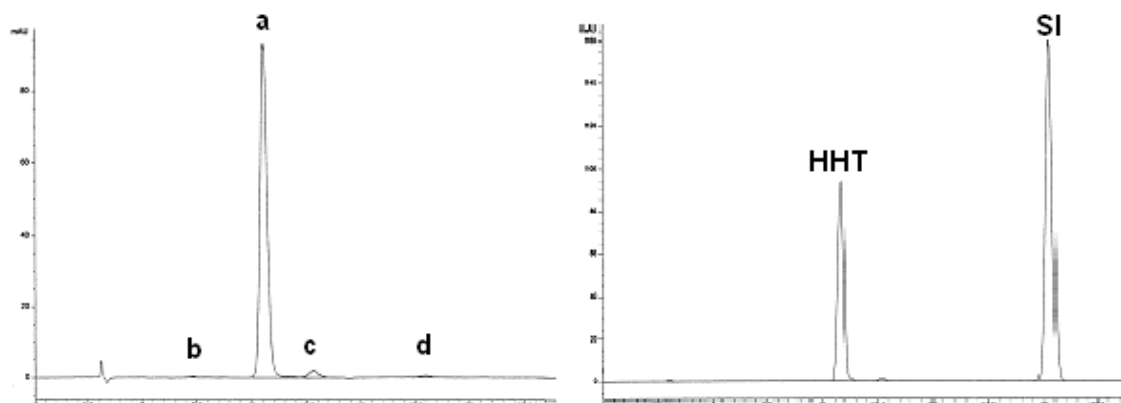


Figure 23: Chromatogrammes HPLC typiques pour les essais de l'HHT **2** dans des échantillons (gauche) et la quantification en présence de standard interne (SI, *o*-nitro-aniline en solution à 10 mg dans 100 mL ACN) (droite).⁸⁰

Ce nouvel essai par HPLC a été validé. Différents lots d'HHT provenant du NCI ont été analysés par cette méthode et ont montré des taux variables d'impuretés à côté de l'HHT (**a**) (Tableau 5). Les deux impuretés nouvelles ont été identifiées comme étant un isomère de l'HHT dans lequel le groupe hydroxyle est en alpha du groupe isopropyle (α -isoHHT) **99** et l'ester d'éthyle de l'HHT (éthyl-HHT) **100** qui est un artefact d'isolement de l'HHT provenant de l'extraction par l'acétate d'éthyle (Figure 24). L'impureté **c** se retrouve concentrée dans les eaux mères de cristallisation de l'HHT (10,7% contre 1 à 3% dans les extraits bruts).

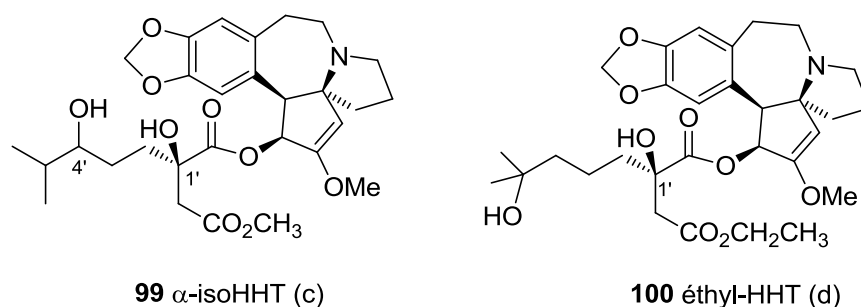


Figure 24

Comme l'HHT est formulée sous forme de poudre lyophilisée et administrée en intraveineuse en solution saline, l'étude de la stabilité de l'HHT vis-à-vis de l'hydrolyse et des décompositions thermiques a été effectuée et les échantillons analysés par cette méthode HPLC. Différentes solutions d'hydrolyse dans l'eau (**S2**) en milieu acide (1N HCl **S3a** et 0,1N HCl **S3b**) et basique (0,1N NH₄OH **S4**) ont été préparées et chauffées à 75 °C pendant 2

h. L'HHT sous forme solide a été chauffée à 60 °C pendant 3 jours à 60% d'humidité (**S5**). L'analyse HPLC montre que l'HHT sous forme solide (**S5**) ou en solution neutre (**S1**, **S2**) est stable en milieu acide (**S3**) comme en milieu basique (**S4**), l'impureté principale de décomposition de l'HHT est l'acide carboxylique libre **101** de l'HHT (**e**). En milieu acide, trois autres impuretés sont observées: l'acide libre de l'anhydro-HHT **102** (**g**), un tautomère de la CET **103** (**h**) et l'adduit de l'ACN avec l'HHT (**i**) (Figure 25). En milieu basique, à côté de l'acide libre de l'HHT (**g**), est observée la présence de CET **1** (**f**) (Figure 25-26).

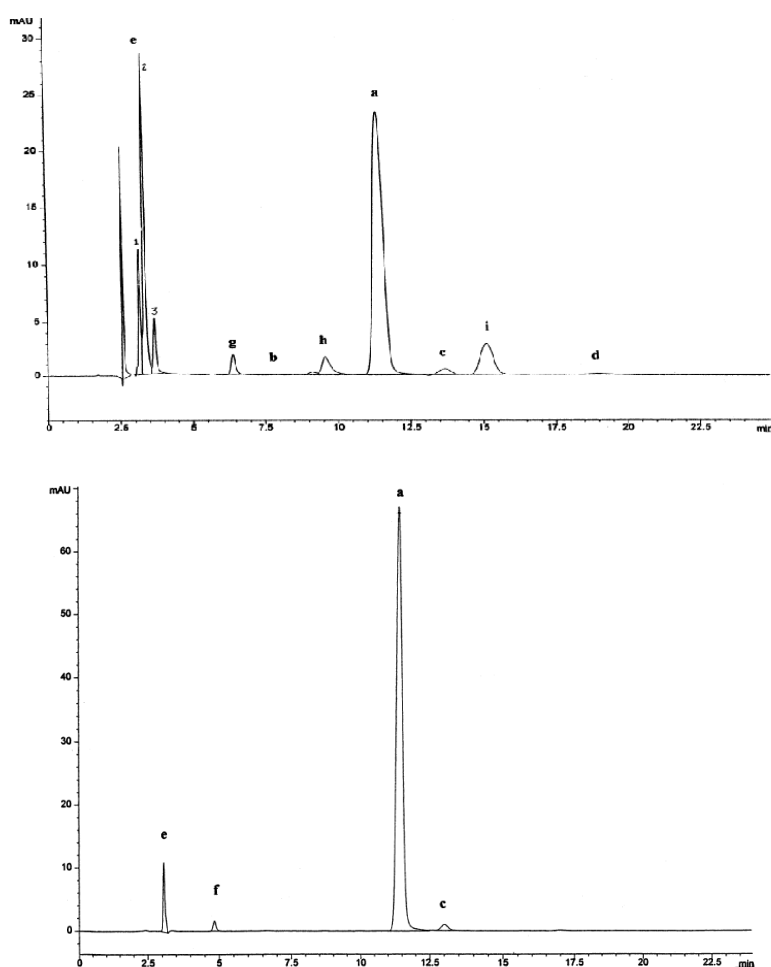
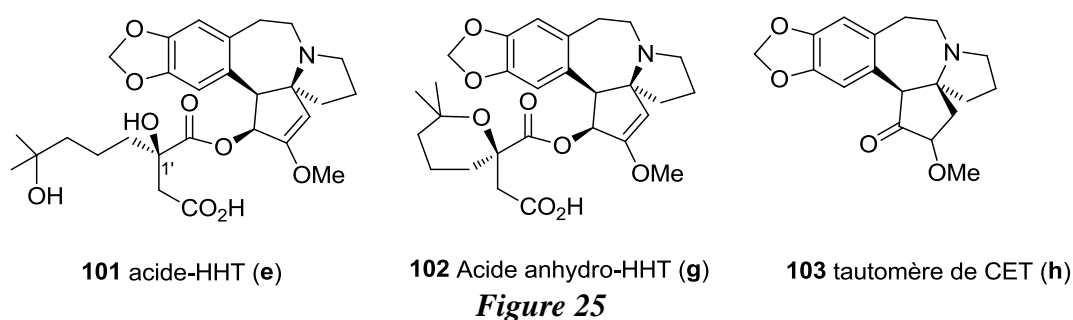


Figure 26: Chromatogrammes des solutions **S3b** (haut) et **S4** (bas) faisant apparaître les produits de décomposition acide **e** (1,2, 3), **g**, **h**, **i** et basique **e** et **f**.

L'analyse HPLC selon He permet donc le dosage de l'HHT dans des échantillons bruts avec une réponse linéaire de 4 à 12 µg avec une limite de quantification (LOQ) de 27 µg de HHT (Tableau 5).

Tableau 5 : Impuretés des lots commerciaux de HHT détectées par HPLC⁸⁰

Numéro de lot	Impuretés %				
	HT 3	α -isoHHT 99	Ethyl- HHT 100	Total des impuretés	Pureté HHT %
NCI 800528	0,1	1,3	0	1,4	98,6
NCI 971203	0	1,0	0	1,0	99,0
NCI 921115	0,3	3,0	0,8	4,1	95,9
NCI 960625	0	1,8	0,3	2,1	97,9
NCI 800722	0,1	0,9	0,2	1,2	98,8
NCI KS-22-130-2	0	1,5	0,9	2,4	97,6
Moyenne des lots NCI	0,1	1,6	0,4	2,0	98,0
Moyenne des lots Oncopharm ⁷⁷	0,00	0,00	0,00	<0,05	>99,95

Une méthode HPLC a été développée pour l'utilisation couplée à de la spectrométrie de masse électro-spray (MS-MS) pour l'analyse d'alcaloïdes contenus dans des feuilles de *Cephalotaxus harringtonia* qui a permis de détecter avec une bonne sensibilité neuf alcaloïdes ayant un groupe ester.⁸¹

c) Extraction et purification de l'HHT

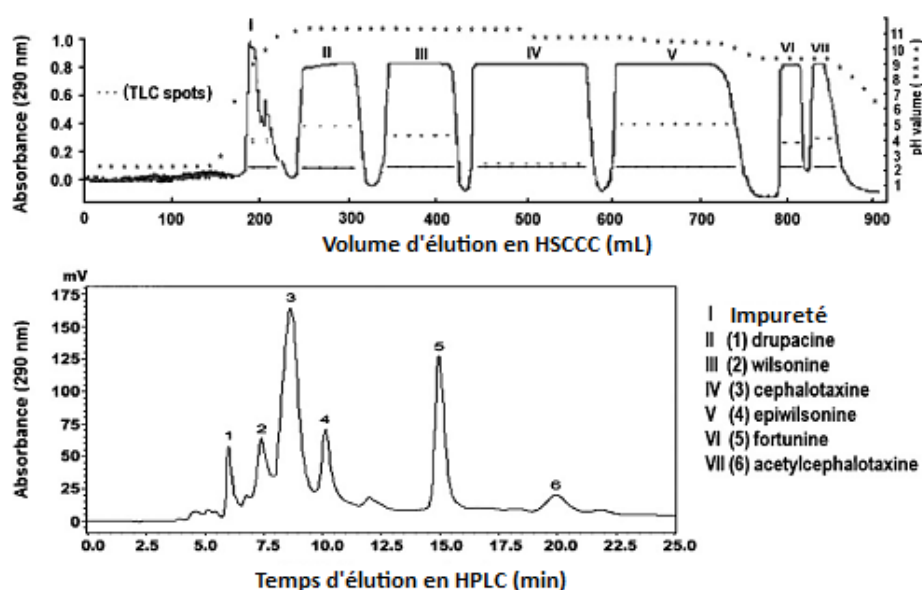
Il est très important de trouver un moyen efficace d'extraction de ces alcaloïdes car la séparation traditionnelle des alcaloïdes de *Cephalotaxus* utilisant la chromatographie sur colonne en plusieurs étapes successives cause la perte des composés cible ou une diminution de la masse de l'échantillon récupéré. L'étude de Du et collaborateurs décrit la séparation des alcaloïdes de *Cephalotaxus fortunei* en utilisant la méthode de la chromatographie rapide à contre courant HSCCC avec gradient de pH permettant un isolement et une récupération de l'HHT excellente.⁸²

HSCCC est un système chromatographique en phase liquide permettant de travailler sans support solide, la séparation est basée sur les effets de partitionnement rapide des analytes entre deux phases liquides non miscibles injectées en sens opposé. Du et collaborateurs ont montré qu'il est très important d'utiliser la ressource limitée en trouvant

⁸¹ Y.-H. Choi, J. Kim, *J. Chromatogra. Sci.*, **2003**, 21, 67-72.

⁸² Z. Liu, Q. Du, K. Wang, L. Xiu, G. Song, *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216, 4663-4667.

une technologie de purification efficace des alcaloïdes, ainsi la séparation d'alcaloïdes de type de CET dans *Cephalotaxus fortunei* a été étudiée par la méthode de HSCCC utilisant un gradient de pH. Le gradient de pH de HSCCC a été exécuté sur un instrument de HSCCC équipé d'une colonne de 400 mL, utilisant la phase supérieure acétate d'éthyle/n-hexane/eau (3/1/4, v/v), avec 0,05% d'acide trifluoroacétique (TFA) comme phase stationnaire et la phase inférieure acétate d'éthyle/n-hexane/eau (3/1/4, v/v), avec 3 éluants différents comprenant les additifs suivants : 2% de NH_4OH , 0,2% NH_4OH ou 0,01% de TFA comme phase mobile. Pour chaque séparation, 800 mg d'extrait d'alcaloïdes de type céphalotaxine a été séparé pour fournir 9,3 mg de drupacine **27**, 15,9 mg de wilsonine **67**, 130,4 mg de CET **1**, 64,8 mg d'épiwilsonine **68**, 12,8 mg de fortunéine **69** et 35,6 mg d'acétylCET **38** avec des puretés respectives de 81,2%, 85,7%, 95,3%, 97,5%, 89,1% et 96,2%. La récupération de chaque alcaloïde est supérieure à 90%. Le résultat de cette étude démontre clairement que la méthode de HSCCC utilisant un gradient de pH est une méthode efficace pour la séparation préparative d'alcaloïdes de type céphalotaxus extraits des feuilles de *Cephalotaxus fortunei* (Figure 27).



Conditions HSCCC: phase stationnaire: acétate d'éthyle:n-hexane (3:1, v/v) saturé en eau avec 0,01% TFA; phase mobile: 2% NH_4OH puis 0,2% NH_4OH + 0,01% TFA; débit: 3,0 mL/min; vitesse de rotation: 750 rpm.

Conditions HPLC: colonne ODS-BP-30, 150 mm×4.6 mm I.D.; phase mobile: MeOH et 0,8mM $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (58/42 v/v); débit: 0,8 mL/min.

Figure 27: Chromatogrammes HSCCC et HPLC d'alcaloïdes bruts de céphalotaxine⁸²

L'extraction en condition supercritique a été appliquée pour améliorer l'efficacité d'extraction d'alcaloïdes de *Cephalotaxus* comme la CET **1**, l'HT **3**, l'HHT **2** et l'isoHT **4**. Choi et collaborateurs ont trouvé que le mélange scCO_2 -méthanol-eau (80:18:2, v/v) utilisé comme solvant d'extraction donne un meilleur rendement en alcaloïdes comparativement aux

autres solvants organiques supercritiques évalués et aux méthodes conventionnelles d'extraction.⁸¹

J-L. Sung et collaborateurs ont mis au point une nouvelle méthode de pré-purification permettant d'obtenir l'homoharringtonine de *Cephalotaxus koreana*.⁸³ L'utilisation d'un pré-traitement de l'extrait MeOH (1/8 m/v, 3 fois 20 min) par (a) extraction liquide-liquide (CHCl₃/MeOH-eau 4/1, pH 5, 4 fois) suivie de (b) absorption sur de l'argile active (P-1, 50% m/m, 30 min) et rincage chloroforme/éthanol (1/2, 20/1 m/v), puis (c) une chromatographie à basse pression sur gel de silice au CH₂Cl₂/éthanol (2/1) a permis la séparation très rapide et efficace de l'HHT des composés interférants, en comparaison les processus alternatifs. Le rendement et la pureté de l'HHTe brute a augmenté en vue d'une purification ultérieure par HPLC (Figure 28).

En utilisant cette méthode de pré-purification une HHT ayant plus de 52% de pureté peut être obtenue simplement de la biomasse avec un bon rendement, en réduisant au minimum l'utilisation de solvants, l'échelle et la complexité des opérations HPLC pour la purification de l'HHT (Tableau 6). Ce tableau montre que ce processus d'obtention de l'HHT brute a permis d'augmenter la pureté de 10% à plus de 52% avec les 3 étapes simples et peu onéreuses de prétraitement de l'extrait MeOH.

Tableau 6. Résumé de la pré-purification (étapes 2-4) de l'HHT de la biomasse (16 g).

Etapes	HHT (g)	Pureté (%)	Rdt Etape (%)	Rdt global (%)
Biomasse	0,055	-	100	100.0
1. Extraction MeOH	0,055	0,5	99	99.0
2. Extraction liquide-liquide	0,049	8,0	90	89.1
3. Absorption	0,044	10,0	90	80.2
4. Chromatographie basse pression	0,038	52,0	85	68.2

83 B.-S. Sungkim, J.-H. Kim, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **2005**, 80, 1148-1153.

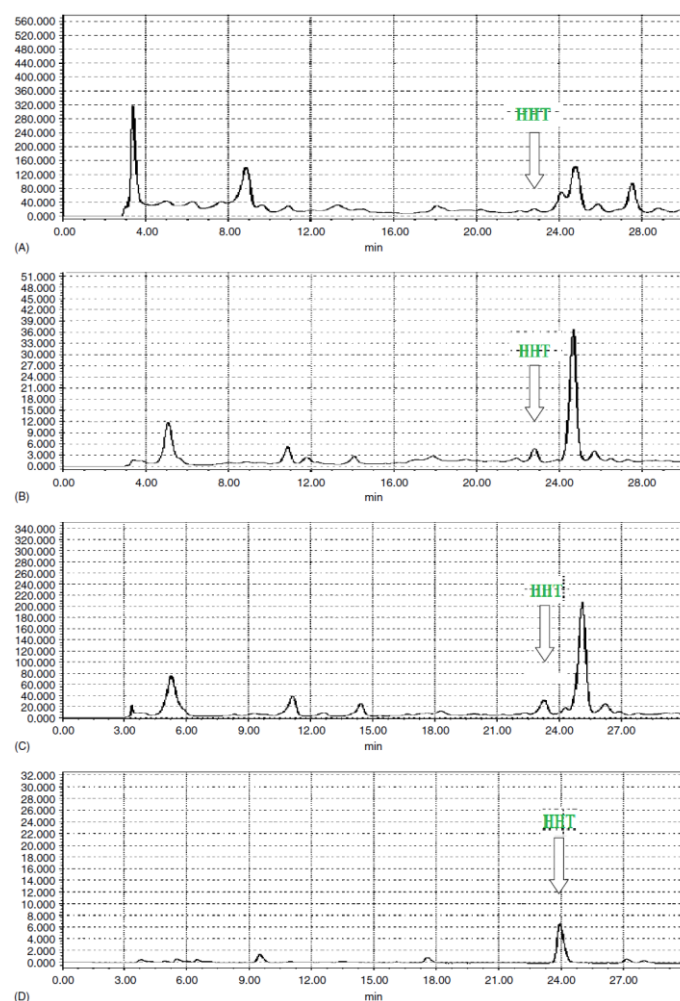


Figure 28: Chromatogramme des étapes de purification analysées par HPLC-PI: (A) Extrait MeOH, (B) Extraction liquide-liquide, (C) Pré-traitement par de l'argile active P-1, (D) chromatographie basse pression sur gel de silice.

J-P Robin et collaborateurs ont étudié une méthode de préparation de l'HHT par hémisynthèse, sa purification et son analyse par HPLC avec détection UV.⁸⁴ Leur travail montre que la purification des HTobtenues par hémisynthèse selon leur procédé, à partir de la CET naturelle par attachement de chaînes latérales, et la purification par HPLC fournit une substance médicamenteuse dont la pureté est toujours supérieure à 99,8% contre 98,5% pour les produits du NCI et 95%-97% pour les produits d'origine chinoise (voir Tableau 5 et Figure 24). Par exemple, 550 g de HHT sont injectés dans un système HPLC préparatif (diamètre 45 cm, hauteur 1 m contenant 48 kg de phase stationnaire ODS). L'élution est réalisée en utilisant un gradient de solution tamponnée de pH 3 de méthanol-eau comme phase mobile (débit 540 L/h, 1200 psi). Les fractions collectées (20 à 50 L) sont séparées par détection UV et analysées par HPLC. Après avoir éliminé des fractions représentant au total environ 0,5% de la teneur totale de HHT 2, les fractions répondant à la spécification (pureté > 99,8%) sont

⁸⁴ J-P. Robin, J. Blanchard, R. Dhal, J-P. Marie, N. Radosevic, *U. S. Patent.*, 2004/0186095, 23 sep. **2004**.

réunies, neutralisées, et évaporées sous pression réduite. La solution brute contenant l'HHT est alcalinisée à pH 8,5 et extraite avec du dichlorométhane. La phase organique est alors concentrée et son analyse HPLC montre un taux d'impuretés inférieur à 0,5%. L'HHT (210 g) est ensuite recristallisée par dissolution dans 240 mL de méthanol à 30 °C, filtration à 0,25 µm pour stérilisation. 2,4 L d'eau désionisée est ajouté puis le méthanol est distillé au rotavapor (décontaminé). Après avoir arrêté le chauffage, la solution aqueuse de HHT DS (qualité « drug substance ») est maintenue au rotavapor jusqu'à apparition de cristaux blancs de HHT pure. Après filtration et séchage sous vide poussé à 60 °C pendant 48 h, l'HHT est obtenue avec un rendement global de 88% par rapport au contenu potentiel d'HHT dans l'HHT brute hémisynthétique. Ce lot clinique correspond à 40000 unités thérapeutiques dosées à 5 mg contenant moins de 0,03% d'impuretés (Figure 24).

L'étape d'extraction joue un rôle important dans l'ensemble du processus de purification de l'HHT, les méthodes traditionnelles d'isolement et de la purification des constituants chimiques des tissus de la plante ont quelques inconvénients. Ces approches exigent un temps d'extraction très long, et en général une grande quantité des solvants avec parfois une faible efficacité. De plus, de nombreux produits naturels sont thermiquement instables et peuvent se dégrader durant une extraction à chaud.⁸⁵

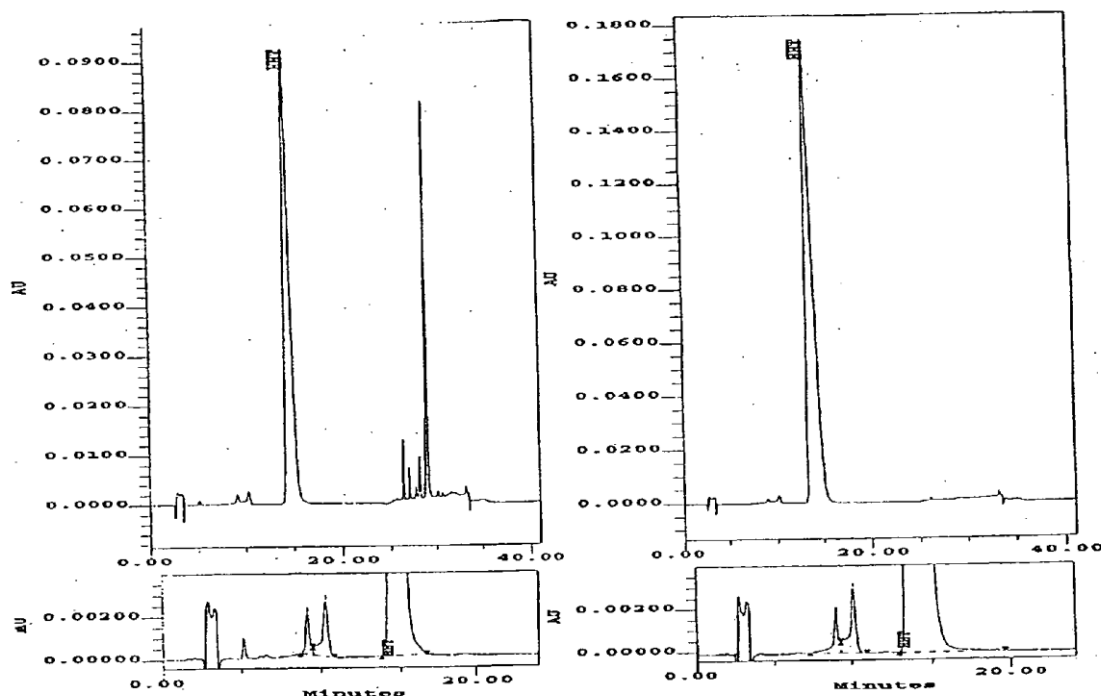


Figure 24 : Chromatogrammes HPLC montrant la progression de la pureté et entre les lots d'HHT brut semi- synthétique (ssHHT) et de pureté DS.

85 (a) Y. Chen, M. Y. Xie, X. F. Gong, *J. Food Eng.*, **2007**, 81,162-170. (b) K. Y. Jeon, J. H. Kim, *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **2007**, 12, 354-358.

Afin de surmonter ces inconvénients, une nouvelle méthode d'extraction de l'HHT de *C. koreana* assistée par micro-ondes MAE a été mise au point par l'équipe de J.-H. Kim (Figure 25).⁸⁶

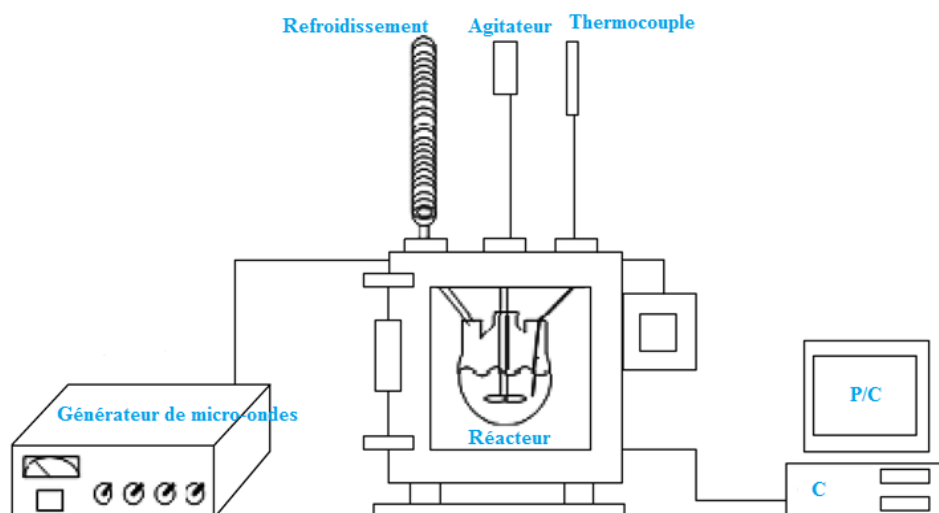


Figure 25: Schéma du processus d'extraction assistée par micro-ondes MAE.

L'utilisation du procédé d'extraction « micro-ondes » MAE est comparé à une méthode d'extraction conventionnelle par des solvants (CSE) pour l'extraction d'HHT de *C. koreana*. Le procédé MAE de récupération de l'HHT (MeOH 1/6 m/v, 250 rpm.) a donné un rendement de la première extraction de la biomasse de 25% supérieur à celui de la méthode CSE (au moins 4 extractions nécessaires). Il est possible de récupérer plus de 99% d'HHT en extrayant une fois la biomasse par MAE à 40 °C pendant 15 min ou 50 °C pendant 5 min. Le contenu en goudrons et composés cireux étant également augmenté, un absorbant (sylopute®, 99% SiO₂) est ajouté à la biomasse (1/1,5 m/m) pendant l'extraction MAE. Un rapport méthanol/biomasse de 1/6 (m/v), pour une extraction à 40 °C en 10 min s'est avéré être le plus efficace pour réduire la durée du processus et la consommation de solvants organique tout en produisant le meilleur rendement en HHT (>99%).

Cette méthode présente de nombreux avantages par comparaison avec les méthodes traditionnelles.

1. Le temps d'extraction est plus court,
2. La quantité de solvants utilisés est réduite,
3. Le rendement de l'extraction est plus élevé,

⁸⁶ W.-K. Kim, H.-J. Chae, J.-H. Kim, *Biotechnol. Bioproc. Eng.*, **2010**, 15, 481-487.

4. Le système de production moins coûteux pour un produit de qualité supérieure.

En conclusion, l'analyse de l'HHT est efficacement réalisée par HPLC et son extraction par MAE. La séparation de l'HHT de ses congénères dans les extraits végétaux est un processus complexe en raison de la structure proche des différents esters de la CET, ce qui justifie le développement de synthèses pour assurer l'approvisionnement en HHT et la préparation d'analogues non naturels de l'HHT en vue de leur utilisation en thérapeutique.

6) Activité biologique des alcaloïdes de type *Cephalotaxus*

Ces dernières années, les plantes médicinales ont attiré l'attention à l'échelle mondiale. Les preuves se sont accumulées depuis longtemps pour démontrer le potentiel prometteur des plantes médicinales utilisées dans différentes médecines traditionnelles, complémentaires ou parallèles, notamment pour le traitement du cancer. Plusieurs plantes médicinales populaires ont été étudiées pour une activité pharmacologique anticancéreuse au cours des dernières années comme les *taxaceae* (Taxol taxotère) et les *camptotheca* (irinotecan, topotecan qui sont des analogues de la camptothécine, etc).⁸⁷

Les extraits d'écorce de la plante *C. harringtonia* sont utilisés depuis longtemps dans la médecine traditionnelle chinoise pour nombre d'indications, dont le traitement de maladies malignes.⁸⁸ Dans les années 60, à la suite de la découverte d'alcaloïdes dans les plantes du genre *Cephalotaxus*, les travaux du NCI et du Département américain de l'Agriculture ont révélé l'activité antitumorale d'extraits de *Cephalotaxus* sur des leucémies murines. Cette découverte est à l'origine des nombreuses études portant sur l'activité biologique de ces alcaloïdes, conduites principalement en Chine et aux États-Unis (par le NCI).

a) Relations structure-activité

Les travaux entrepris aux États-Unis au début des années 70 ont montré que seuls les quatre principaux esters naturels de la CET à savoir l'HHT **2**, l'HT **3**, l'isoHT **4**, et la déoxyHT **5** possèdent une activité antitumorale significative (Tableau 7). En revanche la CET **1**, bien qu'étant l'alcaloïde majoritaire de *Cephalotaxus*, est dépourvue d'activité biologique, de même que les diacides ou diesters provenant respectivement de l'hydrolyse et de la méthanolyse de **1**, **3**, **4** et **5**. Quant aux autres alcaloïdes de *Cephalotaxus* (apparentés à **1** ou de type *Homoerythrina*), ils sont peu ou pas actifs. Il ressort de ces observations que la fonction ester

⁸⁷ G. V. Rao., S. Kumar., M. Islam., S. E. Mansour, *Cancer Therapy*, **2008**, 6, 913-922.

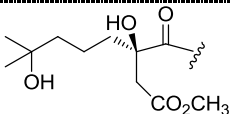
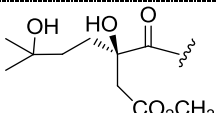
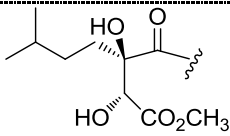
⁸⁸ T. Ohnuma, J. F. Holland, *J. Clin. Oncol.*, **1985**, 73, 604-606.

de la CET est nécessaire à l'activité de ces alcaloïdes, mais qu'elle est insuffisante, l'acétylCET **24** étant inactive (Tableau 7).^{89,90,91,2}

Ces études de relation structure-activité ont montré que l'activité de ces esters est en fait étroitement liée à la nature de leur chaîne latérale. En effet, des modifications mineures de la structure de la chaîne entraînent des variations importantes de l'activité antitumorale des composés qui en dérivent. En particulier, les fonctions hydroxyles sont essentielles. La suppression de la fonction hydroxyle terminale, comme dans la déoxyHT **5**, ou son simple déplacement comme dans l'isoHT **4** entraînent une diminution importante de l'activité *in vivo*.

D'autre part, la suppression de la fonction hydroxyle en C₂, comme dans le composé **112**, entraîne une disparition totale de l'activité.⁸⁹ Enfin, il est indispensable que la fonction carboxylique « tertiaire » soit attachée avec la céphalotaxine, une perte importante d'activité étant observée si c'est la fonction carboxylique « primaire » qui est estérifiée comme dans la pseudodéoxyharringtonine **92** (voir Tableau 7).

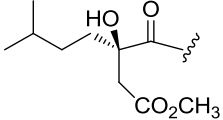

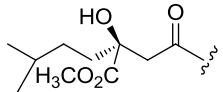
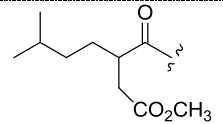
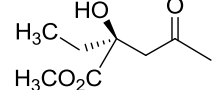
Tableau 7: Activités *in vivo* d'esters de la céphalotaxine contre la P-388^{8,89,90,91} et le LI210³⁴

Composés	R	LD ₅₀ (mg/kg) ^{18,b}	Dosage (mg/kg)	T/C (%) ^a P-388	T/C (%) ^a L-1210	CI ₅₀ (μM) P-388 ⁸
CET 1	H	-	55 110 220	-	98 107 102	-
HHT 2		3,3 ± 0,44	0,25 0,5 1,0	244 272 338	123 120 142	0,031 0,017 ⁸
HT 3		4,3 ± 0,50	0,5 1,0 2,0 4,0 2 ⁹¹	294 405 205 Toxique 147	131 135 137 Toxique Toxique	0,060 0,032 ⁸
IsoHT 4		14,6 ± 0,66	1,9 3,8 7,5 15 3 ⁹¹ 6 12 5 10 20	150 172 272 105 139 183 209	109 124 126 109 116 116 115	0,034

89 K. L. Mikolajczak, C. R. Smith Jr., R. G. Powell., *J. Pharm. Sci.*, **1974**, 63, 1280-1283.

90 K. L. Mikolajczak, R. G. Powell, C. R. Smith Jr., *J. Med. Chem.*, **1975**, 18, 63-66.

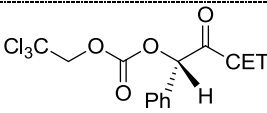
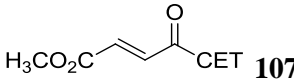
91 R. G. Powell, C. R. Smith Jr., *U. S. Patent*. **1975**, 3,870,727; *Chem. Abstr.*, **1975**, 83, 33023.

DéoxyHT 5		16,0 ± 2,40	0,5 1,0 2,0 4,0	145 155 180 140	-	0,014 0,0075 ⁸
AcétylCET 14		Non toxique	20 40 80 25 50 100	100 100 105	106 106 102	-
PseudodéoxyHT 92		Non toxique	40	122	-	-
DidéoxyHT 104		Non toxique	5 20 40	104 18 104	-	-
105		Non toxique	10 40 135	90 105 135	-	-

a: T/C: temps de survie des animaux traités (T)/temps de survie des animaux de contrôle (C) (Le composé est considéré comme actif si T/C >125%). b: Administration ip.

La mise en évidence du rôle-clé joué par la chaîne latérale dans l'activité de ces esters naturels a conduit à la synthèse d'un grand nombre de dérivés possédant des parties acyles modifiées.^{6a,89,90,92,93,94} la plupart de ces dérivés ayant été obtenus par traitement de la CET naturelle avec des chlorures d'acide divers. Cependant, parmi la cinquantaine de composés testés, seulement sept ont montré une activité contre la P-388 chez la Souris, et aucun ne s'est révélé plus actif que l'HHT **2** (Tableau 8).

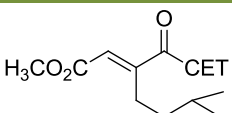
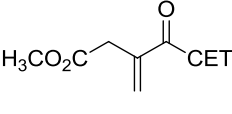
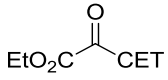
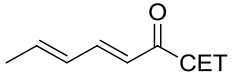
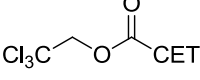
Tableau 8: Activités *in vivo* d'analogues synthétiques des esters de la CET contre la P388^{6a,34,92}

Entrée	Composés (CET = céphalotaxyl)	Dosage (mg/kg)	T/C (%) [*]
1	HHT 2	0,25 1,0	244 338
2	 106	80 ^a 160 ^a 320 ^a	138 154 136
3	 107	80 ^b 40 ^b 20 ^b 10 ^b 4,4 ^d 1,9 ^d	145 134 125 136 147 134

92 K. L. Mikolajczak, C. R. Smith Jr., *U. S. Patent.*, 4,203,996, 20 mai **1980**.

93 S. Li, J. Dai, *Acta Chim. Sin.*, **1975**, 33, 75.

94 X. Ji, F. Zhang, X. Dong, *Acta Pharm. Sin.*, **1983**, 18, 299.

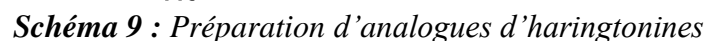
4	 108	20 ^c	131
5	 109	40 ^d 80 ^d 160 ^d 240 ^d 365 ^d	135 173 183 169 198
6	 110	20 ^d 20 ^d 13 ^d 20 ^t	135 211 154 129
9	 111	20 ^d 40 ^d 80 ^d	130 125 150
10	 112	8,8 ^d 20 ^d 40 ^d 80 ^d 160 ^d 320 ^d	170 195 183 183 162 172

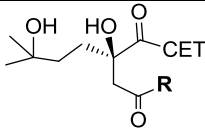

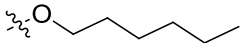
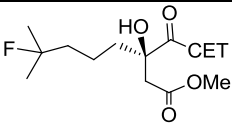
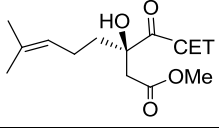
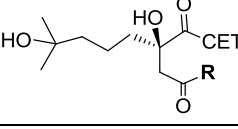

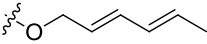
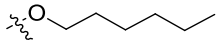
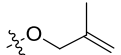
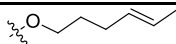
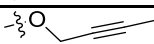
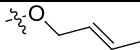
*: voir tableau 7, p 44, a: véhicule = Saline, b: Eau+alcool+acétone, c: Eau+acétone, d : Eau+alcool, t: saline+tween 80.

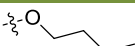
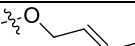
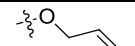
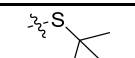
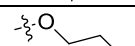
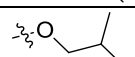
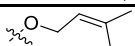
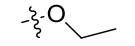
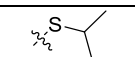
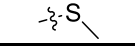

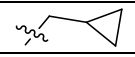
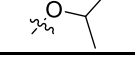
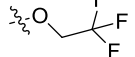
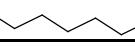
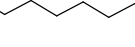
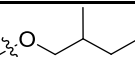
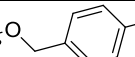
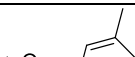
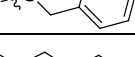
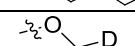
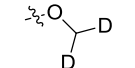
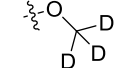
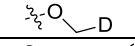
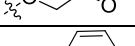
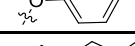
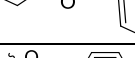
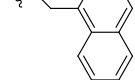
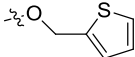
Des analogues structuraux d'harringtonines ont été testés par Robin et collaborateurs sur la lignée cellulaire K562 dérivée de cellules de leucémie myéloïde chromosomique en transformation blastique (bcr-abl positive) (Tableau 9).^{95,96} Les analogues de l'HHT **120-158** ont été préparés par transestérification de l'HHT ou par ouverture de l'anhydroHHT transestérifiée **114**, elle-même obtenue selon deux méthodes (A et B) à partir de l'acide correspondant **115**, avec un rendement de 21 à 82% (Schéma 9), tout comme les analogues **119** de l'HHT **3** et **162** de la drupangtonine **44**.

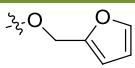
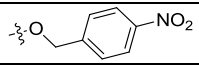
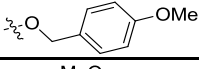
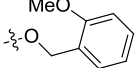
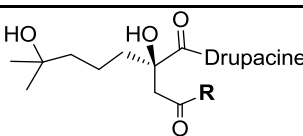
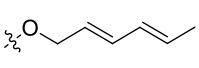
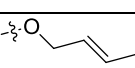
95 J.-P. Robin, R. Dhal, F. Drouye, J.-P. Marie, N. Radodevic, J. Robin, K. Souchaud, P. Bataille, *U. S. Patent.*, 6,579,869, 17 juin **2003**.

96 J.-P. Robin, R. Dhal, F. Drouye, J.-P. Marie, N. Radodevic, J. Robin, K. Souchaud, P. Bataille, *U. S. Patent.*, 7,285,546 B2, 23 oct. **2007**.



EN	Composés	R	Quantité mg	Rdt %	CI ₅₀ (K562) ng/mL
1	(-)-CET 1	H	-	-	2000
2	 HT 3		-	-	30
3	117		30	22	7
4	 118	-	11	22	13,5
5	 119	-	20	21	17,5
6	 HHT 2		-	-	14
7	120		175	30	3,5
8	121		158	47	5
9	122		171	46,5	8,5
10	123		226	54	8,5
11	124		171	46,5	10,5
12	125		122	30	12,5

13	126		107	44	13
14	127		157	58,5	14
12	128		289	54	14,5
15	129		70	31,5	20
16	130		244	57	22,5
17	131		254	61	24
18	132		266	48	28
19	133		A:125 B:298	55 97	41
20	134		118	43	50
21	135		18	76	50
22	136		120	46	80
23	137		107	44	70
24	138		A:103 B: 143	50 39	80
25	139		122	23	100
26	140		183	40	3
27	141		249	51	9
28	142		146	44	29
29	143		141	31	6
29	144		213	45,5	4
30	145		245	43,3	24
31	146		56,5	56	18
32	147		51,7	50	21
33	148		110	60	25
34	149		56,7	56	18
35	150		174	78	12
36	151		A: 54 B: 46	47 40	10
37	152		100	55	25
38	153		62	34	8
39	154		85	49	5

40	155		47	28	3
41	156		100	58,6	18
42	157		90	54	20
43	158		147	82	27
44	 159		50	23,5	9
45	160		132	22	13,5

Un aspect essentiel de l'activité biologique des alcaloïdes de *Cephalotaxus* est l'influence des configurations absolues de leurs centres asymétriques, aussi bien celles du noyau pentacyclique que celles des différentes chaînes latérales. Concernant les chaînes latérales, les différentes études de cytotoxicité utilisant de l'HHT **2** hémisynthétique (mélange d'épimères en C2', provenant de l'estérification de la CET naturelle avec une chaîne acyle racémique) ont nécessité, pour obtenir la même activité qu'avec les molécules naturelles, des dosages deux fois plus importants. On peut donc conclure à une activité négligeable de l'épimère (2'S,3S,4S,5R) de l'HHT **3** ou l'épimère (2'S,3S,4S,5R) **161** de l'HHT **2** par rapport aux molécules naturelles (Figure 31).^{6a}

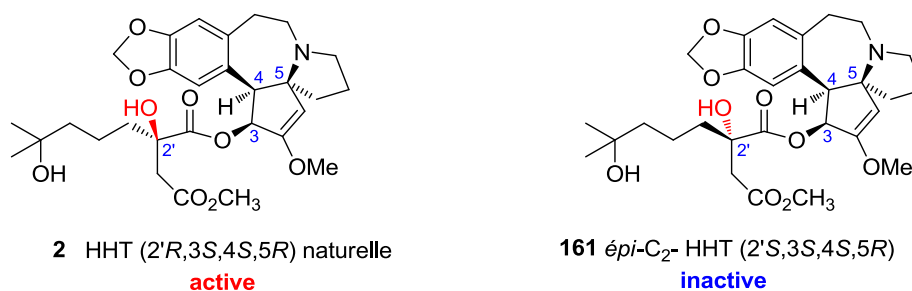
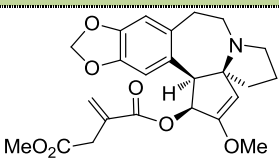
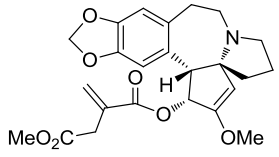


Figure 31

L'importance de la stéréochimie du noyau pentacyclique des esters de la CET sur leur activité biologique a été également mise en évidence par Mikolajczak.^{6a} En effet, alors que le dérivé méthylitaconate synthétique (-)-**162**, préparé à partir de la céphalotaxine naturelle (-)-**1**, présente une activité significative contre la leucémie murine P-388, son énantiomère (+)-*ent*-**162**, préparé de la même façon, mais à partir de céphalotaxine synthétique (+)-**1**, est inactif. Effectivement, alors que (-)-**162** possède une activité significative dès la dose de 40 mg/kg, le même ordre d'activité n'est observé qu'à partir de 480 mg/kg pour son antipode (+)-*ent*-**162** (Tableau 10).

Tableau 10: Influence de la stéréochimie du noyau tétracyclique des esters de la CET sur leur activité biologique dans la P388^{6a}

Composé	Structure	Dose (mg/kg)	T/C (%) ^a
(-)-162		40	135
		80	173
(+)-162		480	132

a : voir tableau 7 page 44

L'équipe de Kobayashi a remarqué que la cytotoxicité des céphalezomines **K 20** et **L 21** avec une chaîne latérale est plus puissante contre les cellules KB que contre les cellules L1210 tandis que c'est l'inverse pour les cellules sans chaîne latérale de type céphalezomines G et H **28-29**.³⁶ La céphalezomine **J 52** avec une chaîne latérale de type sucre identifiée comme le β -D-glucopyranose possède une faible cytotoxicité (Tableau 11). En comparant les cytotoxicités de ces composés, le type « drupacine » et le type « céphalotaxine » avec une chaîne latérale **16**, **17**, **18**, **19** et **3-6** ont montré une cytotoxicité puissante, alors que les composés sans chaîne latérale **1**, **23**, **26** et **27** montrent une cytotoxicité relativement faible. Il est à noter que la plupart de ces alcaloïdes a montré une cytotoxicité plutôt plus puissante contre les cellules KB que contre les leucémies L1210 (Tableau 11).

Les composés 11 α -hydroxy-homodéoxyHT **49**, 11 β -hydroxy-homodéoxyHT **50** et 11 β -hydroxy-déoxyHT **51** ont montré des activités contre les cellules de la P-388 avec des valeurs CI₅₀ de 0,38, 0,33 et 0,17 μ g/ mL respectivement, tandis que la drupangtonine **44** a montré la plus forte activité, 7,5 ng/mL,²⁸ comparable à celle de la déoxyharringtonine **5**²⁷ (Figures 3 et 12).

Tableau 11: Cytotoxicité des alcaloïdes de la CET et des céphalezomines **A-L** contre les cellules de L1210³⁶, P-388²⁸ et de KB³⁶

Composés	CI ₅₀ (μ g/mL)		
	L1210 ³⁶	KB ³⁶	P-388 ²⁸
Céphalotaxine 1	3	0,90	-
11-hydroxyCET 26	2,4	0,75	-
DéméthylCET 23	3,8	0,87	-
Drupacine 27	0,84	0,99	-
HT 3	2	0,74	-
IsoHT 4	0,14	0,22	-

DéoxyHT 5	0,0082	0,0079	0,0075
HomodéoxyHT 6	0,014	0,010	0,056
NordéoxyHT 7	-	-	0,027
BishomodéoxyHT 8	-	-	0,024
Céphalezomines A 45	0,067	0,020	-
Céphalezomines B 46	0,030	0,024	-
Céphalezomines C 16	0,88	0,078	-
Céphalezomines D 17	7,6	0,40	-
Céphalezomines E 18	0,68	0,18	-
Céphalezomines F 19	0,10	0,084	-
Céphalezomines G 28	8	>30	-
Céphalezomines H 29	8,6	>30	-
Céphalezomines J 52	12	5,6	-
Céphalezomines K 20	1,2	0,036	-
Céphalezomines L 21	3,6	0,044	-

Des analogues structuraux d'harringtonines ont été testés par Gin et Djaballah⁹⁷ sur plusieurs lignées cellulaires humaines hématopoïétiques et de tumeurs solides (Tableaux 12 et 13), ainsi que l'HHT **2**, la déoxyHT **5**, l'homodéoxyHT **6**, et l'anhydroHT **163**⁹⁸ qui sont parmi les alcaloïdes antileucémiques de *Cephalotaxus* les plus actifs (Figure 32).

Les résultats ont montré pour la première fois une influence de la structure de la chaîne latérale sur la susceptibilité à la résistance multiple aux drogues (MDR). La déoxyHT **5** est seulement 10 fois moins active contre la lignée résistante à la vincristine HL-60/RV+ (CI₅₀ 0,22 µM) que contre la lignée sensible HL-60 (CI₅₀ 0,02 µM), indiquant une diminution d'activité ≈ 10 fois (Tableau 12), comme pour le dérivé β-lactone **164** (avec un plus faible niveau de cytotoxicité) (Figure 32). Les esters testés sont tous puissamment actifs contre la lignée sensible HL60 (CI₅₀ < 0,08 µM), alors qu'une grande différence d'activité est observée contre la lignée "résistante" HL60/RV+.

97 J. D. Eckelbarger, J. T. Wilmot, M. T. Epperson, C. S. Thakur, D. Shum, C. Antczak, L. Tarassishin, H. Djaballah, D. Y. Gin, *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 4293-4306.

98 Isolée de *C. fortunei* Hook f. avec la néoharringtonine **13**: D. Z. Wang, G. E. Ma, R. S. Xu, *Yaoxue Xuebao (Acta Pharm. Sinica)*, **1992**, *27*, 173; *Chem. Abstract*, **117**, 154640k.

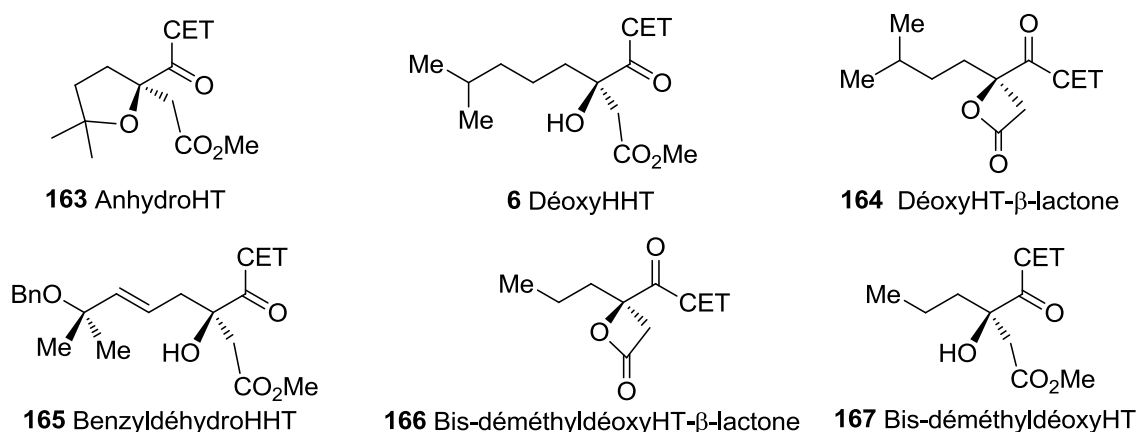


Figure 32

Tableau 12: Effet antitumoral comparatif d'esters de CET contre des lignées HL60 sensibles ou résistantes à la vincristine.⁹⁷

Composés	CI ₅₀ (µg/mL)		Index de résistance	ClogP
	HL-60	HL-60/RV ⁺		
DéoxyHT 5	0,02	0,22	11	1,93
HHT 2	0,02	2,50	125	0,95
HomodéoxyHT 6	0,03	0,10	3,3	2,33
165	0,01	0,19	19	2,80
167	0,08	1,00	12	1,21

L'HHT **2** montre une diminution d'activité d'un facteur 125 (index de résistance (IR) = 125), alors que les esters déoxyHT **5**, homodéoxyHT **6**, le BenzyldéhydroHHT **165**, et le Bis-déméthyldéoxyHT **167** ont des IR beaucoup plus faibles de 11, 3, 19, et 12 respectivement, indiquant que ces derniers sont significativement moins susceptibles à la MDR et les lignées tumorales peuvent donc être considérées sensibles à ces produits. Une explication possible pour la plus grande susceptibilité MDR de l'homoharringtonine **2** est sa plus faible lipophilie due à la structure de sa chaîne latérale, la rendant bon substrat pour les pompes d'efflux.

Les composés ayant une valeur de clogP supérieure à 1,2 conduisent généralement à une faible susceptibilité à la MDR (i.e., IR = 19 pour les esters **5**, **6**, **165**, et **167**). L'exception est l'HHT **2**, qui a une valeur relativement faible de clogP (0,95, relativement plus polaire) qui reflète une susceptibilité à la MDR (i.e., IR = 125). Tous ces composés montrent un large spectre d'activité cytotoxique, à l'exception de la lignée Y79 de rétinoblastome (Tableau 13), ce qui peut être attribué à la surexpression des gènes de MDR dans cette lignée.

Tableau 13 : Cytotoxicité de la déoxyHT 5 et des esters de céphalotaxine 163-167

Lignée Cellulaire	Cytotoxicité CI ₅₀ (µg/mL)					
	5	164	163	165	166	167
HL-60	0,02	2,68	22,7	0,01	5,73	0,08
HL-60/RV ⁺	0,22	21,8		0,19	40,30	0,80
JURKAT	0,04	5,71	42,99	0,03	12,01	0,19
ALL3	< 0,1 ^b	1,47	> 100 ^a	< 0,01	4,24	0,16
NCEB1	0,07	8,62	> 100 ^a	0,06	39,24	0,50
JEKO	0,08	10,48	> 100 ^a	0,08	25,1	0,56
MOLT-3	0,02	2,68	26,83	0,01	6,41	0,06
SKNLP	< 0,1 ^b	6,46	5,34	< 0,01	10,04	0,11
Y79	70,59	0,095	> 100 ^a	> 1,00	> 1,00	> 100 ^a
PC9	0,03	0,039	29,08	0,04	11,29	0,13
H1650	0,04	>1,00 ^a	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
H1975	0,06	4,23	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
H2030	0,10	4,53	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
H3255	0,08	8,42	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
A431	0,06	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
HeLa	0,04	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
TC71	0,06	12	> 100 ^a	0,03	24	0,20
HTB-15	0,20	52	> 100 ^a	0,10	58	0,50
WD0082	0,10	5	> 100 ^a	0,05	11	0,20

^a Plus forte concentration testée

^b plus faible concentration testée donnant 100% de mort cellulaire

Enfin, à l'exception du cas des esters « réarrangés » 168, 169 et 170,^{90,99} qui ne présentent par ailleurs aucune activité cytotoxique, les études de relation structure-activité n'ont pas encore été étendues de façon systématique à la structure du noyau pentacyclique de la céphalotaxine (Figure 33).

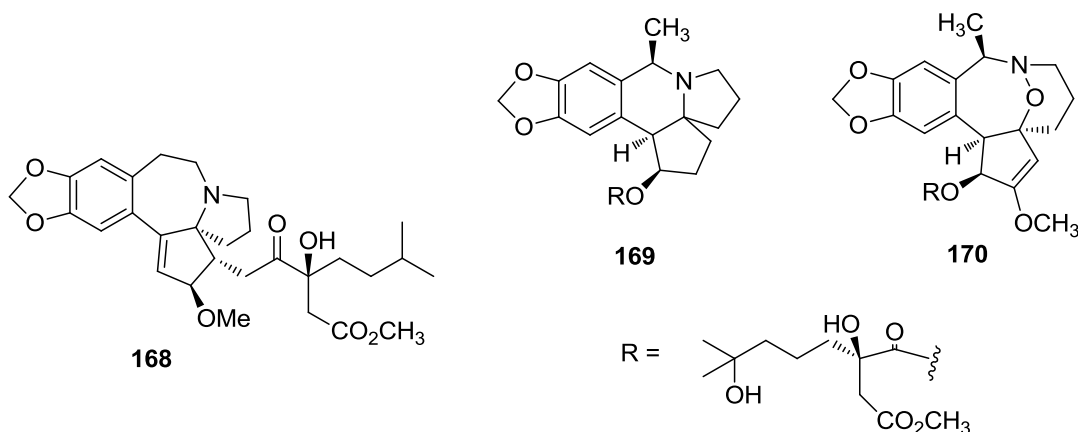


Figure 33

99 I.Takano, I. Yasuda, M. Nishijima, Y. Hitotsuyanagi, K. Takeya, H. Itokawa *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 8251-8254.

L'HHT pourrait être utilisée dans d'autres domaines thérapeutiques que le traitement des cancers. Les propriétés anti-mitotiques de ce composé lui confèrent une bonne activité contre le virus de l'encéphalomyocardie¹⁰⁰ et leur effet immunosuppresseur induit une baisse significative des rejets de greffe. De plus, dans la lutte contre le paludisme, l'HHT possède des propriétés intéressantes puisqu'elle a montré un CI₅₀ d'environ 3 nM sur deux souches de *Plasmodium falciparum* résistantes à la chloroquine ainsi qu'une inhibition de la croissance du parasite chez la souris.¹⁰¹

Dans le cadre de la recherche de nouveaux traitements plus efficaces et moins toxiques de la malaria et la leishmaniose, des maladies tropicales majeures des populations des pays en développement, l'HT **3** et L'HHT **2** ont été évaluées et des activités antiplasmodiales contre *Plasmodium falciparum* 3D7 mais pas d'activité contre *Leishmania major* sont révélées. Dans le test de *P. falciparum* les composés ayant une fonctionnalité 3'S-hydroxy ont montré une activité puissante (CI₅₀ de 0,045 µM) et une bonne sélectivité (IS de 86,2) pour l'isoHT **4** ainsi qu'une (CI₅₀ de 0,071 µM) et de sélectivité (IS de 67,5) pour la céphalezomine E **26**. La présence d'une chaîne latérale en C-3 peut être étroitement liée à l'activité antiplasmodiale de ces alcaloïdes de *Cephalotaxus* (Tableau 14).

Les alcaloïdes de type amide comme le céphastigiamide A **33**, le céphalotaxinamide **15** et les dérivés N-oxyde **34**, **37**, **38** et **39** n'ont pas montré une activité puissante même s'ils possèdent une chaîne latérale en C-3. Le dimère de bis-céphalozomine A **35** ne montre pas d'activité antiplasmodiale, alors même que les alcaloïdes de type drupacine **17** avec une chaîne latérale comme la céphalezomine B **46** a montré une activité relativement puissante avec une CI₅₀ de 0,040 µM et un index de sélectivité (IS) de 44,5.⁴⁹

Le virus du chikungunya (CHIKV) est un virus transmis par un moustique qui a ré-émergé ces dernières années. Depuis l'épidémie de chikungunya à la Réunion en 2005-2006, des millions de personnes dans plus de 40 pays ont été infectées. Cependant aucun traitement antiviral n'est disponible contre ce virus. Un criblage de produits naturels contre l'infection par le CHIKV montré que l'HT **3** est un puissant inhibiteur de l'infection par le CHIKV (EC₅₀ = 0.24 µM) avec une faible cytotoxicité.¹⁰²

100 (a) F. Berhal, J. Pérard-Viret, J. Royer, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2010**, 21,325-332. (b) T. V. Ramabhadran, R. E. Thach, *J. Virol.*, **1980**, 34, 293-296.

101 (a) R. M. Ekong, G. C. Kirby, G. Patel, J. D. Phillipson, D. C. Warurst. *Biochem. Pharmacol.*, **1990**, 40, 297-301. (b) J. M. Whaun, N. D. Brown, *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **1990**, 84, 229-237.

102 P. Kaur, M. D/O Thiruchelvan, R. Ching Hua Lee, H. Chenn, K. Caiyun Chen, M. Lee Ng, J. J. Hann Chu, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2013**, 57, Published ahead of print 22 October 2012, doi: 10.1128/ AAC.01467-12.

Tableau 14: Activités biologiques des alcaloïdes de *Cephalotaxus* contre *Plasmodium falciparum* 3D7, *leishmania major* et les cellules de carcinome épidermoïde humain A549, respectivement⁴⁹

Composés	CI ₅₀ (μM)			
	<i>P.falciparum</i> 3D7	<i>Leishmanias majeure</i>	A549	IS
CET 1	17,08	67,90	> 31,75	> 1,9
Céphalotaxinamide 25	0,67	3,43	17,80	26,6
Céphalezomine B 46	0,040	NT ^a	1,78	44,5
Céphalezomine E 18	0,071	NT ^a	4,79	67,5
Céphalezomine F 19	0,66	NT ^a	4,41	6,7
Céphastigiamine A 47	17,82	117,36	> 18,35	> 1
Céphalocyclidine A 41	> 31,55	NT ^a	> 63,00	> 2
Bis-céphalezomine A 54	1,99	NT ^a	> 18,30	> 9,2
HHT 2	0,012	0,095	0,084	7
HT 3	0,0043	0,039	0,14	32,6
isoHT 4	0,045	2,00	3,88	86,2
déoxyHT 5	0,0014	1,36	0,021	15
HomoHT-N-oxide 48	0,53	NT ^a	5,20	9,8
HomodéoxyHT 6	0,0018	27,54	0,068	37,8
CD ^b	0,011	-	-	-
AmB ^c	-	0,14	-	-
Taxol ^d	-	-	0,0014	-

^aNT = non testé, ^bCD = chloroquine diphosphate, ^cAmB = Amphotéricine B, La chloroquine et l'AmB sont le contrôle positif pour dosage de l'activité antiplasmodiale et antileishmaniale respectivement. ^dContrôle positif pour l'essai de cytotoxicité, IS: indice de sélectivité (c'est une mesure des valeurs CI₅₀ obtenus sur cellule A549 divisée par la CI₅₀ sur *P. falciparum* 3D7).

L'harringtonine inhibe un stade précoce du cycle de replication du CHIKV juste après l'entrée du virus dans la cellule. L'HT affecte la production d'ARN du CHIKV et exerce son effet antiviral par inhibition de la synthèse des protéines virales du CHIKV. Le traitement du virus Sindbis, un alphavirus apparenté, par de l'HT 3, suggère que l'harringtonine pourrait inhiber d'autres alphavirus.

Il ressort de ces études que les esters dérivés de la céphalotaxine **1** les plus actifs sont l'HHT **2** et l'HT **3**. Au début des années 70, le NCI a sélectionné l'HHT **2**, composé le plus abondant dans la plante, en vue de son développement pré-clinique. Les études pharmacologiques se sont donc concentrées sur ce composé.¹⁰³ Ces études ont été particulièrement longues pour diverses raisons, dont le principal est la faible abondance de ces alcaloïdes.

b) Mécanisme d'action

La compréhension des mécanismes qui modifient la croissance et le métabolisme des cellules cancéreuses est un point important du développement des antitumoraux. Même si le

103 D. C. Zhou, R. Zittoun, J. P. Marie. *Bull Cancer*, **1995**, 82, 987-995.

mécanisme d'action de l'HHT et de ses analogues n'est pas complètement élucidé, son activité biologique repose essentiellement sur l'inhibition de la synthèse protéique.¹⁰⁴ Des études *in vitro* et *in vivo* de l'HHT et d'analogues ester contre les lignées de leucémie L1210 ont démontré une relation proportionnelle entre l'inhibition de la synthèse des protéines et l'activité cytotoxique, la rétention intracellulaire d'harringtonine radiomarquée a été trouvée en corrélation avec la synthèse des protéines et la majorité de la drogue était étroitement liée aux structures microsomaux.¹⁰⁴

Ainsi Huang a établi que l'HHT à 0,04 μ M inhibe 50 % de l'incorporation de leucine traitée dans les cellules HeLa.¹⁰⁵ Il observe également une dégradation des polyribosomes. En revanche aucun effet n'est observé sur le site de liaison de l'ARN-m sur le ribosome. Fresno a suggéré que l'HHT inhibe, lors de l'étape de transcription, la phase d'élongation, en empêchant la liaison du substrat sur le site actif de la sous unité ribosomale 60S, ce qui bloque la liaison aminoacyl-ARN-t et donc la synthèse peptidique.¹⁰⁶ Cela a été confirmé par les études de Tujebajeva¹⁰⁷ qui a démontré que l'HHT s'associe au voisinage ou sur le site actif de la peptidyl-transférase ribosomale, ce qui bloque l'activité de cette enzyme indispensable à la synthèse peptidique. Des données biochimiques suggèrent que l'homoharringtonine se lie également au site-A de la grande sous-unité ribosomale et inhibe la liaison de l'aminocyl-ARN-t au ribosome.

Moore a déterminé les structures cristallines de la grande sous-unité ribosomale de *Haloarcula marismortui* avec des inhibiteurs de synthèse protéique liés dont l'homoharringtonine (Figures 34 et 35).¹⁰⁸ La sous-unité a été représentée ouverte pour montrer le centre peptidyl-transférase et le tunnel de sortie du polypeptide. L'ARN ribosomal est montré en gris, et les protéines sont indiquées en bleu. Un ARN-t lié au site P (brun) est représenté avec un ARN-t lié au site A (violet), tout juste visible derrière elle, et une chaîne peptidique naissante (en rouge) est représentée schématiquement s'étendant vers le bas du tunnel de sortie.

104 H. M. Kantarjian, M. Talpaz, V. Santini, A. Murgo, B. Cheson, S. M. O'Brien, *Cancer*, **2001**, 92, 1591-1605.

105 M. T. Huang, *Mol. Pharmacol.*, **1975**, 11, 511-519.

106 M. Fresno, A. Jimenez, D. Vasquez, *Eur. J. Biochem.*, **1977**, 72, 323-330.

107 (a) R. M. Tujebajeva, D. M. Graifer, G. G. Karpova, N. A. Ajtkhozhina, *FEBS Letters*, **1989**, 257, 254-256

(b) R. M. Tujebajeva, D. M. Graifer, A. B. Matasova, *Biochem Biophys. Acta.*, **1992**, 1129, 177-182.

108 G. Gürel, G. Blaha, P.-B. Moore, T.-A. Steitz, *J. Mol. Biol.*, **2009**, 389, 146-156.

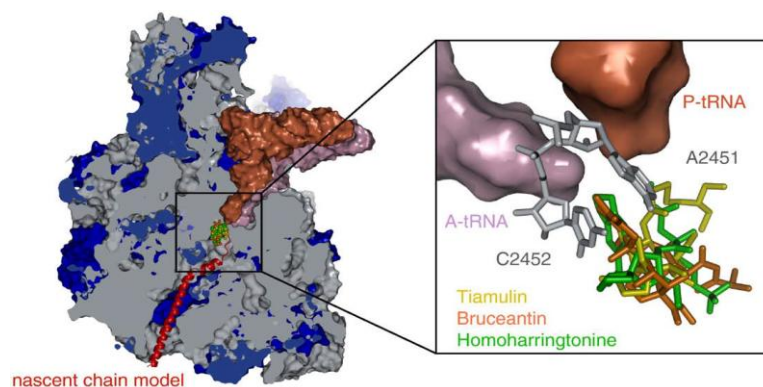


Figure 34: Vue transversale de la grande sous-unité ribosomale¹⁰⁸

Cette figure montre aussi le site où les antibiotiques d'intérêt lient au ribosome. Le site de liaison à l'ARN-t est montré par des surfaces de couleur: les deux nucléotides qui définissent le site-A apparaissent en gris, et les trois médicaments apparaissent superposées (tiamuline en jaune, brucéantine en rouge et HHT en vert).

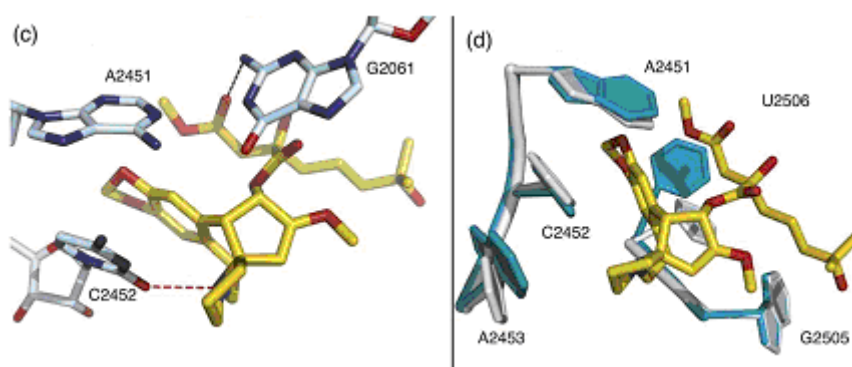


Figure 35: l'Interaction HHT-ribosome (c) et les changements de conformation associés à la liaison de l'HHT (d).

La partie (c) montre comment l'HHTe interagit avec le ribosome, les médicaments sont montrés avec **C** en jaune, **N** en bleu, **O** en rouge. Les liaisons hydrogène sont montrées comme des tirets rouges. La partie (d) montre les changements conformationnels associés à la liaison de l'HHT. L'interaction de l'HHT avec le ribosome est stabilisée par des interactions hydrophobes et des liaisons hydrogène.

Par ailleurs, l'inhibition de la glycosidation des protéines synthétisées a pu être mise en évidence.¹⁰⁹ Par contre, l'exposition des cellules tumorales à l'HHT doit être prolongée puisque 24 h après l'injection la synthèse protéique est à nouveau normale. A forte

¹⁰⁹ Y. H. Ling, M. T. Tseng, J. I. Harty, *Cancer Res.*, **1989**, 49, 76.

concentration, l'HHT inhibe la synthèse de l'ADN¹¹⁰ et bloque la progression cellulaire de la phase G1 à la phase S et de la phase G2 à la phase M (Figure 36).¹¹¹

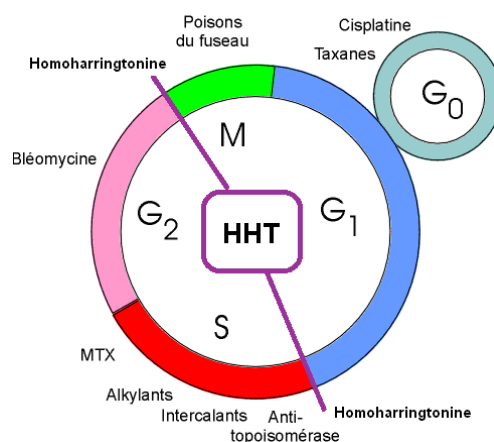


Figure 36: Effet anticancéreux spécifique de composés antitumoraux et de l'HHT sur le cycle cellulaire

Il a également été établi que l'HHT induit l'apoptose de certaines cellules leucémiques *in vivo*.¹¹² En 2003, des chercheurs chinois ont montré que, pour des cellules leucémiques K562n, l'HHT provoque l'apoptose cellulaire en activant la production du facteur nucléaire kappa B.¹¹³ Plus récemment, une autre équipe chinoise a tenté de déterminer les différents gènes dont l'expression est modifiée lors de l'apoptose induite par l'HHT sur des cellules leucémiques HL-60.¹¹⁴ Ils ont principalement établi la surexpression des gènes TIEG et VDUP1; TIEG est connu pour inhiber la prolifération et induire l'apoptose de cellules leucémiques humaines osseuses et pancréatiques, tandis que VDUP1 favorise l'apoptose de cellules soumises à un stress oxydatif. Des études récentes sur les cellules de la LMC ont suggéré la différenciation et l'induction de l'apoptose comme un mécanisme potentiel en aval des effets de l'HHT. Les résultats de Mai ont indiqué que l'HHT induit la fragmentation des nucléosomes et entraîne l'apparition de fragments d'environ 180-200 paires de bases dans les cellules de leucémie myéloïde chronique humaines de type K562. Mai également étudié la relation possible entre le cycle cellulaire et la mort cellulaire induite par HHT.^{112e} Le

110 T-C. Chou, F. A. Schmid, A. Feinberg, F. S. Philips, J. Han, *Cancer Res.*, **1983**, 43, 3074-3079.

111 D. M. Baaske, P. Heinsteint, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1977**, 12, 298-300.

112 (a) L. Li, L.J. Xia, C. Jiang, R. Han, *Acta Pharm. Sin.*, **1994**, 29, 667-672 (b) S. O'Brien, A. Keating, H. Kantarjian, M. Talpaz, M. Beran, S. Stass, *Blood*, **1995**, 86, 3322-3326. (c) G. Visani, D. Russo, E. Ottaviani, P. Tosi, D. Damiani, A. Michelutti, *Leukemia*, **1997**, 11, 624-628 (d) Z. Cai, M. Lin, C. Wuchter, V. Ruppert, B. Dörken, W. D. Ludwig, L. Karawajew, *Leukemia*, **2001**, 4, 567-574 (e) W-Y. Mai, M-F. Lin, *Chin. Med. J.* **2005**, 118, 487-492.

113 J. H. Shi, X. P. Xu, Z. L. Zhang, J. S. Zhang, J. B. Ge, X. Y. Cheng, *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, **2003**, 42, 292-295.

114 W. Jin, L.-F. Qu, P. Min, S. Chen, H. Li, H. Lu, Y.-T. Hou, *Acta Pharm. Sin.*, **2004**, 319-326.

traitement des cellules K562 sur 24 h entraîne l'induction de la fragmentation de l'ADN à des doses à partir de 0,01 µg/ml d'HHT. L'analyse morphologique des cellules montre que l'HHT a un effet apoptotique des cellules K562. L'analyse du cycle cellulaire mesurée par cytométrie de flux dans les cellules K562 a montré une perte de cellules en phase G1 avec l'augmentation de cellules en phase S, ce qui reflète l'effet important de l'HHT pour l'arrêt en phase S.

Parallèlement, il a été démontré que l'HHT inhibe la synthèse du VEGF (vascular endothelial growth factor) dans des lignées de cellules leucémiques K562.¹¹⁵ Le VEGF est un médiateur important de l'angiogénèse dans la moelle osseuse. Ces derniers travaux semblent donc établir une possible activité anti-angiogénique pour l'HHT.

L'HHT est avérée significativement active comme thérapie pour les patients atteints de la LMC après échec de la thérapie à l'interféron- α .¹¹⁶ Cependant dans les années 1990, le succès remarquable du *mésylate d'imatinib* dans le traitement de la LMC a relégué l'HHT au second plan. En effet, la LMC est une transformation maligne d'une cellule souche hématopoïétique, caractérisée par une anomalie génétique acquise: le chromosome Philadelphie (Ph), résultant de la translocation réciproque t(9,22) (q34,q11). L'expression de la protéine de fusion BCR-ABL, issue de cette translocation, est l'élément oncogénique fondateur dans la LMC ainsi que dans un sous-groupe de leucémies aiguës lymphoblastiques (Ph+LAL). La protéine oncogène BCR-ABL présente une activité tyrosine kinase constitutive qui agit sur les voies de survie et de prolifération. Cette activité tyrosine kinase constitutive de la protéine chimérique est à l'origine de la transformation de cellules souches hématopoïétiques dans la LMC ou des cellules B précoces (pre-B) dans la LAL générant deux maladies distinctes. La progression de la maladie vers la phase accélérée puis blastique s'accompagne d'anomalies génétiques additionnelles marqueurs d'une instabilité génomique croissante. L'Imatinib inhibe l'activité tyrosine kinase de BCR-ABL ainsi que la prolifération de lignées cellulaires BCR-ABL positives et induit leur apoptose. L'inhibition de l'activité kinase de la protéine BCR-ABL par l'Imatinib représente une thérapie efficace dans le traitement des LMC, bien que ce même traitement n'induit pas la rémission des patients atteints de LAL Ph+. Le traitement des leucémies nécessite donc un arsenal thérapeutique important et diversifié dans lequel l'HHT trouve sa place. Le développement de l'omacétaxine mépésuccinate® (HHT hémisynthétique ou ssHHT, ChemGenex Pharmaceuticals), par voie

115 X.-J. Ye, M.-F. J. Lin, *Zhejiang Univ. SCI.*, **2004**, 5, 230-234.

116 A. Quintas-Cardama, H. Kantarjian, D. Jones, C. Nicaise, S.O'Brien, F.Giles, M. Talpaz, J. Cortes, *Blood*, **2007**, 109, 497-499.

sous-cutanée biodisponible et son activité sur la LMC résistante à l'imatinib a établi cet agent, pour la seconde fois, comme une option utile dans le traitement de cette maladie.

En 2009, les résultats préliminaires de l'équipe de Quintas-Cardama au département du cancer à l'université du Texas soutiennent l'utilisation de cet agent pour les patients qui ont LMC résistante aux inhibiteurs de tyrosine kinase (TKi), y compris ceux qui portent la mutation qui échange l'acide aminé thréonine (T) par une isoleucine (I) en position 315 (la mutation T315I) qui confère l'insensibilité au TKi.¹¹⁷

Le récepteur transmembranaire de l'oncoprotéine KIT est une cible thérapeutique importante qui fait partie du sous type III des tyrosine-kinases. Certaines mutations de ce récepteur (V560G, D816V ou D814Y) lui confèrent la propriété de s'autodimériser et de s'autophosphoryler sans activation par son ligand, le stem cell factor (SCF), ce qui peut conduire éventuellement à une prolifération cellulaire incontrôlée et à une résistance à l'apoptose. Le gain de fonction lié à ces mutations du récepteur de KIT joue un rôle essentiel dans la pathogenèse de la mastocytose systémique (SM) et des tumeurs stromales gastro-intestinales (GISTs). L'équipe de Jin a émis que l'hypothèse de l'HHT, en tant qu'inhibiteur de la synthèse protéique, diminuerait le niveau de protéine KIT par inhibition de la traduction, ce qui entraînerait une diminution du niveau de phospho-KIT et abrogerait sa signalisation constitutive en aval. L'HHT **2** inhibe efficacement *in vitro* et *in vivo* chez la souris la croissance et induit l'apoptose de cellules tumorales portant les mutations de KIT V560G (sensible à l'imatinib) et D816V (insensibles à l'imatinib).¹¹⁸ En outre, l'HHT **2** prolonge significativement la durée de survie des souris ayant une SM agressive (35 j au lieu de 7j) cependant une résistance rapide à l'HHT est observée dans ce cas.

Afin d'étudier le mécanisme d'action de l'HHT, l'inhibition de la croissance cellulaire et la cytotoxicité d'HHT a été étudiée par l'équipe de Shiliang dans trois lignées cellulaires de LMA: HL-60, NB4 et U937 et en trois lignées cellulaires de LMC: K562, KU812 et KCL22. Les cellules LMA sont plus sensibles que les cellules LMC à la cytotoxicité induite par l'HHT. Cette étude suggère que la protéine Bcl-xL joue un rôle plus important que la protéine Bcl-2 et Mcl-1 dans la protection contre l'apoptose induite par l'HHT.¹¹⁹

117 A. Quintas-Cardama, H. Kantarjian, J. Cortes, *Cancer. Soc.*, **2009**, *115*, 5382-93.

118 Y. Jin, Z. Lu, K. Cao, Z. Yunhui, Q. Chen, Z. Feng, C. Qian, J. Pan, *Mol. Cancer. Ther.*, **2010**, *9*, 211-223.

119 Y. Shiliang, W. Rui, Z. Fan, Z. Hong, J. Yongkui, *Mol. Pharmacol.*, **2011**, *79*, 1072-1083.

c) Études pré-cliniques

c1) Études in vitro sur des cellules leucémiques

En 1985, Takemura a testé l'HHT sur 10 lignées de leucémies humaines en mesurant l'inhibition de la croissance cellulaire.¹²⁰ Il a observé une activité 70 fois plus importante sur les cellules HL-60 (présümées promyéloïdes aiguës) que sur les cellules BALM-2 (lymphoïdes aiguës). En 1990, Zhou obtient, pour des cellules HL-60, KG-1, EM-2 et U-397, des CI₅₀ compris entre 1,2 et 2,2 nM, la durée d'exposition semble avoir une plus grande influence que la quantité de produit utilisée. Les cellules ayant un fort taux de prolifération semblent être les plus sensibles à l'action de l'HHT.

Comme l'omacetaxine mépésuccinate (l'HHT) est une molécule qui a un mécanisme d'action différent de celui des inhibiteurs de tyrosine kinase et son activité dans la LMC peut être indépendante de l'état de mutation BCR-ABL.¹²¹ En 2009 Chen.Y a évalué les effets inhibiteurs d'omacetaxine sur la LMC et B-ALL (leucémie aiguë lymphoblastique), ils ont montré que plus de 90% des cellules souches leucémiques ont été tuées après le traitement avec l'omacetaxine in vitro. En revanche, moins de 9 ou 25% des cellules souches leucémiques ont été tuées après traitement par l'imatinib ou le dasatinib, respectivement.¹²²

c2) Études in vivo sur des tumeurs expérimentales

Les études *in vivo* conduites sur la Souris, le Lapin et le Chien ont montré une activité significative contre certaines tumeurs expérimentales. L'HHT possède un effet remarquable sur la leucémie L1210 de la Souris à des doses comprises entre 0,5 et 4mg/kg ; la survie des animaux traités augmente de 142 % par rapport à la population témoin. Sur la leucémie murine P-388, la survie augmente de 300%.

c3) Effets sur d'autres lignées cancéreuses

In vitro et *in vivo*, l'HHT est inefficace contre les cancers du poumon, du rein, du colon et de l'ovaire ainsi que sur les mélanomes.¹²³ En revanche, un effet significatif a été démontré chez la Souris sur des tumeurs sous-cutanées avancées du colon.¹²⁴

120 Y. Takemura, T. Ohnuma, T.-C. Chou, T. Okano, J.-F. Holland. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1985**, *14*, 206-210.

¹²¹ C. Preudhomme, J.-M. Cayuela, J.-C. Chomel, S. Corm, S. Hayette, F.-X. Mahon, F. E. Nicolini, D. Réa, C. Roche-Lestienne, F. Guilhot, *Hématologie*, **2010**, *16*, 65-79.

122 Y. Chen, Y. Hu, S. Michaels, D. Segal, D. Brown, S. Li, *Leukemia*, **2009**, *23*, 1446-1454.

123 W. R. Cobb, A. E. Bogden, S.D. Reich, T. W. Griffin, D. E. Kelton, D. J. LePage, *Cancer Treat. Rep.*, **1983**, *67*, 173-178.

124 B. C. Baguley, S. B. Calveley, K. K. Crowe, L. M. Fray, O'Rourke, S. A. Smith, G. P. *Eur. J. Cancer Clin., Oncol.* **1989**, *25*, 263-268.

c4) Résistances

Wilkof a démontré que des cellules P-388 résistantes à la doxorubicine et la vincristine développent rapidement une résistance croisée à l'HHT; en revanche, les cellules P-388 résistantes à la cytarabine se sont révélées beaucoup plus sensibles à l'HHT.¹²⁵

c5) Combinaisons avec d'autres substances anticancéreuses

L'HHT a également été testée en combinaison avec d'autres substances anticancéreuses afin de détecter d'éventuels effets de synergie. A l'exception de la cytarabine,¹²⁶ et plus modestement de la 5-fluorouracile et de l'hexaméthylène bisacétamide,¹²⁶ aucun effet de synergie n'a été observé.¹²⁷

d) Toxicologie et pharmacocinétique

Les premières études menées chez le Chien et la Souris ont montré une toxicité de l'HHT (LD₅₀ = 3,3 mg/kg chez la Souris) qui implique les systèmes hématopoïétiques, cardiovasculaire et gastro-intestinal.¹²⁸ Ces effets sont dose-dépendants et réversibles après arrêt du traitement. De plus, l'HHT s'est révélée toxique sur le système lymphoïde, la moelle osseuse et les reins.

Après injection intraveineuse d'HHT marquée à des souris porteuses de tumeurs expérimentales, la radioactivité sanguine décroît rapidement après 15 min et les plus hauts taux de radioactivité sont observés dans la moelle osseuse, les reins, le foie, le cœur et l'intestin.¹²⁹ Après deux heures, la radioactivité mesurée décroît rapidement dans ces tissus puis disparaît complètement environ 24 h après l'injection.

e) Études cliniques

Les premières études systématiques sur le traitement des leucémies chez l'Homme par l'HHT ont débuté dans les années 70 en Chine. Les résultats encourageants ont accéléré la recherche clinique dans d'autres pays, et quelques années après les essais cliniques de phase I et II ont débuté aux États-Unis, ces études ont démontré un taux de réponse cytogénétique de

125 L. J. Wilkoff, D. A. Dulmadge, W. R. Laster, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **1989**, 23, 145-150.

126 (a) J-Y. Zhou, D-L. Chen, Z-S. Shen, H. P. Koeffler, *Cancer Research*, **1990**, 50, 2031-2035 (b) W. R. Laster, M.W. Trader, F. Schabel, M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **1982**, 23, 199 (c) M. P. Fanucchi, X. R. Kong, T. C. Chou, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **1986**, 27, 376.

127 T. Okano, T. Ohnuma, J-F. Holland, H. P. Koeffler, Han Jui. T. Okano, T. Ohnuma, J. F. Holland. *Invest. New Drugs*, **1983**, 1, 145-150.

128 Y. J. Zhang, H. Yu, X. Y. Luo, Y. X. Zheng, W. J. Li, X. L.; X. L. Liu, Y.Y. Yuan. *Acta Pharm. Sin.*, **1979**, 14, 135-140.

129 X. Ji, Y. Liu, H. Lin, Z. Liu, *Acta Pharm. Sin.*, **1982**, 17, 881.

tiers en fin de la traitement des patients de LMC avec l'HHT qui n'ont pas bénéficié au traitement de l'IFN- α . Des essais cliniques récents ont montré l'innocuité et l'efficacité significative de l'administration sous-cutanée d'HHT (omacétaxine mépesuccinate) en traitement des patients atteints de LMC qui ont échoué aux thérapies préalables à l'interféron et à l'imatinib et ayant la mutation du gène du domaine kinase T315I.^{117,130} Cela a été suivi en janvier 2011 par des demandes aux agences du médicament FDA aux États-Unis et EMA en Europe. Toutefois une décision de la FDA a souligné la nécessité d'un diagnostic normalisé associé à ce traitement qui confirmerait que la cible est présente chez les patients.¹³¹

e1). Essais en Chine

Dans la première étude,¹³² menée chez des patients atteints de leucémie aiguë, un mélange d'HHT et d'HT (1:2) a été injecté à des doses variant de 2 mg à 6 mg par jour pendant des périodes allant de 22 à 86 jours. Une rémission complète a été observée dans 12% des cas. Cette étude a également établi que la dose maximale tolérée était de 4 mg par jour pendant 14 jours. Les effets secondaires se sont révélés être principalement des troubles cardiovasculaires (hypotension, tachycardie...). En 1980, Grem a effectué un bilan des études préliminaires chinoises sur l'HHT.¹³³ Sur les 274 patients atteints de leucémie myéloïde aiguë, une rémission complète a été observée chez 65 patients (24%), tandis qu'une rémission complète n'a été observée que chez un seul patient sur les 21 atteints de leucémie lymphoïde aiguë. Il demeure cependant difficile d'évaluer ces études, notamment à cause de critères peu précis pour la caractérisation des rémissions partielles et complètes.

La réponse thérapeutique chez des patients âgés atteints de LMA reste faible. Wang a évalué l'efficacité et la toxicité de l'HHT **2** en association avec la cytarabine comme une thérapie d'induction pour la LMA chez les personnes âgées (≥ 60 ans). Vingt trois patients ont été traités dans le groupe HA recevant l'HHT (2 mg/m²/jour pendant 7 jours) et la cytarabine (Ara-C, 100 mg/m²/jour pendant 7 jours). Le taux de réponse global est de 56,5% avec une rémission complète CR de 39,1% et un taux de rémission partielle de 17,4%. Aucune mort précoce n'a été observée. Ainsi, le traitement HA est un schéma d'induction adapté pour les patients âgés atteints de LMA, avec une toxicité relativement faible et taux de réponse raisonnable.¹³⁴

130 Benichou A, Khoury HJ, Corm S, et al. *J Clin. Oncol.*, **2008**, 26, 377s (Abstract 7021).

131 E. Berman, *Clin. Adv. Hem. Onc.*, **2011**, 9, 57-58.

132 Cephalotaxus Research Coordinating Group *Chin. J. Med. (Engl)*, **1976**, 2, 263-272.

133 J. L. Grem, B. D. Cheson, S. A. King, B. Leyland-Jones, M. J. Suffness, *J. Natl. Cancer Inst.*, **1988**, 80, 1095-1103.

134 J. Wang, S. Lü, J. Yang, X. Song, C. Li, C. Huang, J. Hou, W. Zhang, *J. Hem. Onco.*, **2009**, 2, 32.

Li et collaborateurs ont montré qu'une faible dose d'HHT seule a démontré une efficacité à court terme et à long terme en fin de traitement pour 600 patients atteints de LMC ayant reçu 1,5 mg/m² d'HHT seule en perfusion tous les jours de 7 à 9 jours pendant quatre semaines. L'HHT seule peut donc être un bon choix pour les patients qui n'ont pas de réponse à l'imatinib, au traitement à l'IFN- α ou à la transplantation de cellules souches hématopoïétiques ou ne peuvent pas se permettre ces traitements.¹³⁵

Le traitement impliquant le facteur stimulant de colonies de granulocytes (G-CSF), une faible dose d'homoharringtonine et une dose standard d'imatinib, appelé le groupe G-CSF + homoharringtonine + imatinib (GHI), est efficace chez des patients ayant une LMC en crise blastique qui n'ont pas répondu à une monothérapie avec l'imatinib. Douze patients ont été engagés dans cette étude. Le traitement GHI peut améliorer les patients ne répondant pas aux doses à l'imatinib et cette approche nécessite d'autres évaluations comme thérapie de première intention pour les patients ayant une LMC nouvellement diagnostiquée.¹³⁶

Une thérapie combinée IFN- α et HHT a montré son efficacité pour le traitement d'induction de LMC ou une thérapie de maintenance à long terme de LMC. La réponse cytogénétique et la survie estimée à 2 ans sont meilleures dans le groupe IFN- α + HHT que dans le groupe IFN- α (52,4% vs. 28,6% et 90% vs. 73%, respectivement). Aucune toxicité hématologique de niveaux 3 ou 4, d'infections sévères, d'hémorragies ou d'effets secondaires non-hématologiques n'ont été observés.¹³⁷

e2) Essais cliniques de phase I

Ces études ont débuté dans les années 80 aux États-Unis afin de déterminer la tolérance de l'HHT chez l'homme.¹³⁸ La forte toxicité sur le système cardiovasculaire a été confirmée avec plusieurs cas d'infarctus chez les patients ayant reçu des injections journalières de 5 à 6 mg/m². Cet effet secondaire semble provenir de la fixation de l'HHT à un récepteur calcique qui contrôle la vasodilatation, source d'hypotension.¹³⁹ Une administration par perfusion lente permet cependant de supprimer cet effet indésirable.¹⁴⁰ La myélosuppression, des troubles intestinaux et de la fièvre ont parfois été observés chez

135 Y-f. Li, Z-k. Deng, H-b. Xuan, J-b. Zhu, B-h. Ding, X-n. Liu, B-a. Chen, *Chin. Med. J.*, **2009**, 122, 1413-1417.

136 B. Fang, N. Li, Y. Song, Q. Han, R. C. Zhao, *Annals Hematol.*, **2010**, 89, 1099-1105.

137 J. Zhu, B. Ding, Y. Li, *Leuk. Lymph.*, **2013**, Ahead of Print : 1-4. doi:10.3109/10428194.2012.745521

138 S. S. Legha, M. Keating, S. Pickett, J. A. Ajani, M. Ewer, G. P. Bodey, *Cancer Treat. Rep.*, **1984**, 68, 1085-1091.

139 N. Savaraj, K. Lu, L. G. Feun, D. Wang, T. L. Loo, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **1985**, 26, 359.

140 (a) S. C. Malamud, T. Ohnuma, V. Coffey, P. A. Paciucci, L. P. Wasserman, J. F. Holland, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **1984**, 25, 179 (b) J. A. Stewart, I. H. Krakoff, *Invest. New Drugs*, **1985**, 3, 279-286.

certain patients.¹⁴¹ Quelque soit le mode d'administration, les études de phase I ont recommandé une dose journalière de 3 à 4 mg/m² pour les études de phase II.

e3) Essais cliniques de phase II et III

L'HHT s'est révélée efficace dans le traitement de la leucémie myéloïde aiguë avec une rémission complète observée dans 20 à 30 % des cas.¹⁴² D'excellents résultats ont également été obtenus dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique avec une réponse histologique complète observée dans 70 % des cas.^{112b} Enfin, l'HHT s'est révélée efficace dans le traitement du syndrome myélodysplasique,¹⁴³ et de la leucémie promyélocytaire.¹⁴⁴

Les résultats ont été plus décevants dans le traitement des leucémies lymphoblastiques aiguës bien qu'une synergie soit observée par combinaison avec la vincristine, l'ara-C ou la prednisone.¹⁴⁵

De nombreuses études cliniques, menées sur des patients atteints de tumeurs solides, ont conclu à une complète inefficacité de l'HHT dans de tels cas.¹⁰⁴

e4) Combinaisons avec d'autres substances anticancéreuses

L'HHT a été testée en combinaison avec divers agents anticancéreux afin de découvrir d'éventuelles synergies. Dans le cas de la leucémie myéloïde aiguë, des résultats encourageant ont été enregistrés avec la cytarabine¹⁴⁶ la matrine et l'indirubine,¹⁴⁷ tandis qu'aucune synergie n'est observée avec l'étoposide¹⁴⁸ et l'amsacrine.¹⁴⁹

Dans le cas de la leucémie myéloïde chronique, l'interféron- α ⁹⁵ et le Gleevec¹⁵⁰ ont montré une synergie intéressante avec l'HHT.

Les patients qui ont une LMC avec la mutation T315I de la protéine oncogène BCR-Abl ont un très mauvais pronostic de guérison. Cependant, il a été rapporté qu'un patient de 63 ans en échec thérapeutique traité par le Gleevec et l'INFa a développé cette mutation au bout de 9 mois. Après traitement avec l'HHT **2**, ce patient a montré une complète guérison et une reversion de cette mutation complète après 5,5 mois de traitement, faisant de l'HHT une

141 W. J. Slichenmyer, D. D. J. Von Hoff, *Clin. Pharmacol.*, **1990**, 30, 770-788.

142 Z. Arlin, E. Feldman, S. Biguzzi, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **1987**, 6, 160.

143 E. Feldman, T. Ahmed, A. Mittelman. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **1991**, 10, 228.

144 J. S. Ye, X. H. Wang, G. H. Feng, G. R. Liang, Z. P. Liu, *Leukemia*, **1988**, 2, 447-449.

145 E. Berman, T. C. Chou, R. P. Warrel, *Blood*, **1986**, 68 (suppl. 1), 218.

146 E. J. Feldman, Z. Arlin, T. Ahmed, A. Mittelman, C. Puccio, H. Chun, *Leukemia*, **1992**, 6, 1189-1191.

147 US Patent 20070166415, 19 juillet **2007**.

148 R. P. Warrel, E. Berman, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **1986**, 27, 192.

149 I. E. Haines, D. A. Lowenthal, R. P. Warrel, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **1987**, 6, 163.

150 F.-Y. Meng, W.-Y. Zheng, X.-L. Liu, L.-L. Song, B. Xu, Y. Zhang, F. Huang, *Chin. J. Cancer*, **2003**, 22, 840-843.

option intéressante y compris en présence de BCR-Abl.¹⁵¹ Un autre cas de traitement réussi d'un patient avec une LMC ayant une mutation du domaine tyrosine kinase de BCR-ABL T315I avec l'omacétaxine a été rapporté séparément.¹⁵²

L'omacétaxine est en cours d'étude de phase II/III pour des patients ayant une LMC réfractaire à l'imatinib (toutes phases) qui ont la mutation T315I de BCR-ABL. Une réponse hématologique complète a été reportée pour 47% (8/17), 13% (1/8), and 20% (1/5) des patients en phases PC, PA, and PB,¹⁵³ respectivement. Une réponse cytogénétique complète a été reportée pour 12% (2/17) des patients en PC, mais aucun patient en phase PA ou PB n'a obtenu de réponse cytogénétique complète (CCyR). Cependant, le niveau des transcrits T315I est devenu indétectable pour 60% des patients évalués (15/25). Une hypothèse physiopathologique expliquerait la disparition éventuelle du clone muté sous HHT via les cellules quiescentes, parfois considérées comme réservoir du clone muté et sur lesquelles l'HHT exercerait une action ciblée.¹⁵⁴ Les niveaux 3/4 de toxicité associée les plus fréquemment rencontrés avec cette thérapie à l'omacétaxine sont la thrombocytopénie (44% [14/32]), la neutropénie (31% [10/32]), et l'anémie (28% [9/32]). Ces données intéressantes de l'HHT restent, néanmoins, à confirmer.

7) Perspectives

Plusieurs directions semblent actuellement importantes pour les recherches futures. Tout d'abord, une nouvelle méthode d'analyse quantitative par HPLC permet désormais de détecter la présence d'HHT dans le sang à des taux extrêmement bas.⁷⁹ Il devrait ainsi être possible d'accélérer les recherches de pharmacocinétique pour optimiser le temps et la durée de traitement. Le mode d'administration restait encore un obstacle au développement de l'HHT, les perfusions lentes ayant permis de s'affranchir de la toxicité cardiovasculaire, mais demeurant peu pratiques. Des recherches ont permis la mise au point d'un mode d'administration par voie sous-cutanée ou trans-cutanée qui permet de s'affranchir de ces problèmes.

Par ailleurs, les études de combinaison entre plusieurs agents anticancéreux et l'HHT pourraient aboutir à de nouvelles thérapies plus efficaces dans le traitement de la leucémie.

151 L. Legros, S. Hayette, F.E. Nicolini, S. Raynaud, K. Chabane, J.-P. Magaud, J.-P. Cassuto, M. Michallet, *Leukemia* **2007**, 21, 2204-2206.

152 H. de Lavallade, JS. Khorashad, HP. Davis, D. Milojkovic, JS. Kaeda, JM. Goldman, JF. Apperley, D. Marin, *Blood*, **2007**; 110:2779-80

153 L'évolution de la leucémie myéloïde chronique se fait en trois phases. La première est une phase chronique (PC) suivie d'une phase d'accélération (PA) (10% des patients se présentent d'emblée à ce stade) et la troisième est une phase de transformation en leucémie aigüe ou phase blastique (TA ou PB).

154 E. Allan, H. G. Jorgensen, S. Michaels, et al., *EHA* **2009** (Résumé 1052).

L'apparition d'une résistance à l'HHT est en cours d'étude et le rôle-clé de la glycoprotéine G dans le processus de rejet de l'HHT a été mis en évidence.¹⁵⁵

Grâce à des études de pharmacomodulation, conduites tant sur la chaîne latérale que sur le coeur polycyclique, des composés de seconde génération, moins toxiques et agissant sur un ensemble de tumeurs plus large, pourraient voir le jour.

Par exemple, le composé **121** produits par Oncopharm semble être dix fois plus actif que l'HHT (test cellulaire *in vitro*) contre des cellules leucémiques K-562.¹⁵⁶ Par ailleurs, la recherche de nouveaux esters naturels apparentés à l'HHT se poursuit. Ainsi, la drupangtonine **44** (Figure 12, p.19) et la néoharringtonine **13** (Figure 9, p.13) isolées respectivement en 1996⁸ et 1997³³ montrent une activité supérieure à l'HHT contre la leucémie murine P-388 (Figure 37).

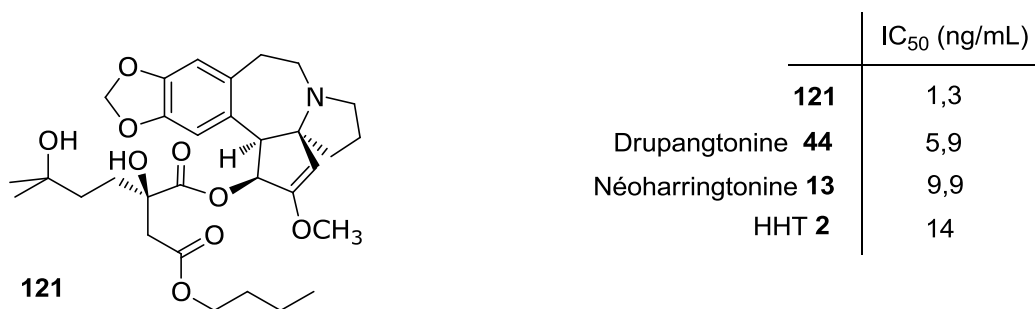


Figure 37

Outre ces propriétés antimitotiques, l'HHT possède une activité antitumorale sur l'endothélium vasculaire. En effet, elle agit en inhibant l'angiogénèse responsable de la vascularisation de la tumeur.¹⁵⁷

Les esters de *Cephalotaxus* ou harringtonines et leurs analogues sont ainsi des molécules très importantes à synthétiser dans le cadre du traitement de leucémie. En vue de l'utilisation en thérapeutique de l'HHT **2**, il est donc important de disposer d'une synthèse efficace de la (-)-CET **1** qui pourra permettre de s'affranchir de la ressource végétale rare.

155 D. C. Zhou, S. Ramond, F. Viguié, A. M. Faussat, R. Zittoun, J. P. Marie, *Int. J. Cancer*, **1996**, 65, 365-371.

156 J-P. Robin, R. Dhal, F. Drouye, J-P. Marie, N. Radošević, J. Robin, F. Souchaud, P. Bataille, *PCT Int. Appl.*, **2003**, 06579869.

157 Z. Wang, B. Zhao, *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuomingshu* **2004**, *Chem Abstract*, 143, 20014.

II. Synthèses de la Céphalotaxine

1) Généralités

Les activités anticancéreuses significatives et les structures chimiques pentacycliques¹⁵⁸ uniques ont fait des alcaloïdes de *Cephalotaxus* des cibles attrayantes pour les chimistes de synthèse. Depuis la publication des toutes premières synthèses de la (±)-CET par Weinreb^{159a} et Semmelhack¹⁶⁰ en 1972, une vingtaine de synthèses totales ont été décrites dans la bibliographie (tableaux 16 et 17), et autant de synthèses énantiosélectives de la (-)-CET de configuration naturelle ont été publiées.¹⁶¹

La CET **1** comporte deux unités structurales qui imposent des choix stratégiques pour sa synthèse: un système pyrrolobenzazépine ABC et une unité azaspiranique CD (Schéma 10). Les trois centres asymétriques contigus en C3, C4 et C5 sont situés sur le cycle D. Weinreb,⁴⁰ a montré que la jonction B-D est thermodynamiquement favorisée et que le contrôle de la configuration relative en C3 est effectué lors de la réduction de carbonyle de la céphalotaxinone **22**.

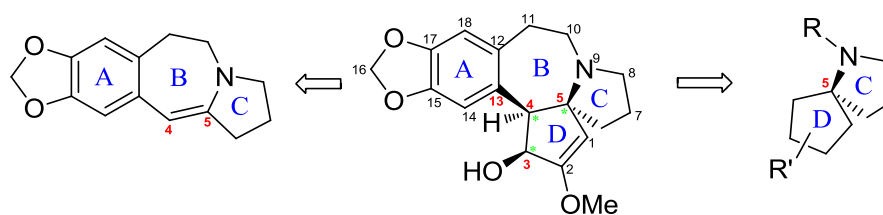


Schéma 10

Nous présentons les stratégies publiées à ce jour selon la déconnexion principale employée pour la formation du cycle B (Tableaux 16 et 17). Les synthèses énantiosélectives sont regroupées à la fin du paragraphe car, dans ces cas, c'est aussi la méthode de contrôle des centres asymétriques qui devient le point-clé de la stratégie utilisée. Ces synthèses seront présentées avec le souci de faire apparaître les étapes et intermédiaires clés.

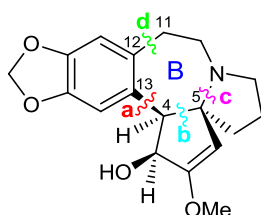
158 Dans la numérotation ABCD des cycles, le cycle méthylène-dioxy n'est pas pris en compte (groupement protecteur).

159 J. Auerbach, S. M. Weinreb, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 7172-7173.

160 (a) M. F. Semmelhack, B. P. Chong, L. D. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 8629-8630. (b) S. M. Weinreb, M. F. Semmelhack, *Acc. Chem. Res.*, **1975**, 8, 158-164.

161 (a) H. Abdelkafi, B. Nay, *Nat. Prod., Rep.*, **2012**, 29, 845-869. (b) M. Pizzonero, F. Dumas, J. d'Angelo, *Heterocycles*, **2005**, 66, 31-37. (c) B. M. Trost, D. A. Bringley, P. S. Seng, *Org. Lett.*, **2012**, 14, 234-237. (d) Q.-W. Zhang, K. Xiang, Y.-Q. Tu, S.-Y. Zhang, X.-M. Zhang, Y.-M. Zhao, T.-C. Zhang, *Chem. Asian J.*, **2012**, 7, 894-898. (e) M.G. Gonçalves-Martin, S. Sigmantas, P. Renaud, *Helv. Chim. Acta*, **2012**, 95, 2502-2514. (f) Z.-W. Zhang, X.-F. Zhang, J. Feng, Y.-H. Yang, C.-C. Wang, J.-C. Feng, S. Liu, *J. Org. Chem.*, **2013**, 78, 786-790.

Tableau 16 : Synthèses racémiques de la céphalotaxine



Synthèses racémiques					
Auteurs (année)	Nombre d'étapes	Déconnection du cycle B	RG %	Matière première*	Page
Weinreb (1972)	13	a	2,7	Pipéronal 171	71
Dolby (1972)	12	d	0,6	Pipéronal 171	72
Weinstein (1975)	13	a	2,3	Benzodioxole 183	73
Snieckus (1976)	14	a	1,6	Pipéronal 171	73
Danishefsky (1990)	18	b	0,5	Pipéronal 171	74
Li (2005)	16	a	0,5	Pipéronal 171	75
Semmelhack (1972)	12	a	7,2	Pipéronal 171	75
Hanaoka (1986)	12	a	6,2	Acide homovératrique 206	77
Kuehne (1988)	11	a	11,2	Pipéronal 171	78
Tietze (1997)	12	a	3,3	Pipéronal 171	79
Suga et Yoshida (2003)	17	a	1,9	Pipéronal 171	81
Stoltz (2007)	13	a	2,9	Pipéronal 171	83
Li (2007)	13	a	4,0	Acide homovératrique 206	84
Yang et Liu (2008)	15	a	7,1	Acide homovératrique 206	85
Bubnov (2008)	16	a	2,6	Acide homovératrique 206	86
Fuchs (1988)	22 + 1 HPLC	c	4,6	Pipéronal 171	88
Mariano (1994)	23	c	1,0	Pipéronal 171	89
Li (2011)	18	c	0,13	Pipéronal 171	90
Ikeda (1993)	19	d	18	Pipéronal 171	92
Nagasaka (2002)	19	a	5,6	Pipéronal 171	93
Li (2003)	17	c	2,0	Pipéronal 171	95
(2005)	15		2,6		98
Tu et Zhang (2009)	25	c	0,8	Pipéronal 171	97

* Pour le cycle A

Il est apparent d'après ce tableau que la plupart des synthèses (14/21) de la (±)-CET **1** procèdent par la déconnexion C₄-C₁₃ avec un nombre d'étapes compris de 11-13 (Semmelhack, Dolby, Kuehne, Tietze, Weinreb, Weinstein, Stoltz, Snieckus, Hanaoka et Li) à 23-25.

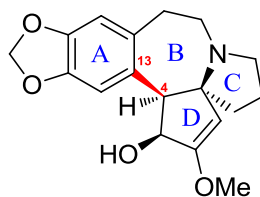
L'approche la plus efficace est celle de Kuehne qui réalise une synthèse en seulement 11 étapes et 11,2% de rendement (rendement moyen de 84% par étape) alors qu'Ikeda décrit une synthèse en 19 étapes avec 18% de rendement (rendement moyen de 91,5% par étape).

Tableau 17 : Synthèses asymétriques de la (-)-céphalotaxine

Synthèses asymétriques					
Auteurs (année)	Nombre d'étapes	Déconnection du cycle B	RG % ee%	Matière première* Source de chiralité	Page
Weinreb-Merk	15	a	5,3 98,5	Pipéronal 171 Acide <i>L</i> -(+)-tartrique	99
Zhong (1994)	16	a	nd	Pipéronal 171 Acide <i>L</i> -(+)-tartrique	100
El Bialy 1 (2002)	18	d	1,5 89	Pipéronal 171 Acide <i>L</i> -(+)-malique	100
El Bialy 2 (2002)	14	a	10,8 89	Benzodioxole 183 <i>D</i> -proline	101
Mori (1995)	18	a	1,6 86	Acide homovératrique 206 <i>D</i> -Proline	102
Ikeda (1999)	19	d	5,4 88	Benzodioxole 183 <i>D</i> -Proline	104
Hayes 1 (2008)	22	a	0,2 75	Pipéronal 171 <i>L</i> -proline	106
Tietze (1999)	13	a	3,1 87	Pipéronal 171 Oxazaborolidine 410	107
Gin (2008)	24	a	1,6 89	Benzodioxole 183 <i>D</i> -Ribose	109
Ishibashi (2008)	17	a	1,3 99,6	Pipéronal 171 Acide <i>D</i> -tartrique	109
Nagasaka (1997)	15 + 1 HPLC	a	6,2 99	Pipéronal 171 (<i>R,R</i>)-(-)-2,3-Butanediol	111
Royer (2004)	17	a	8,3 98	Pipéronal 171 (<i>S</i>)-1-naphtyléthylamine	115
Dumas d'Angelo (2005)	20	a	4,2 91	Pipéronal 171 (<i>R</i>)-1-phényléthylamine	116
Mariano 1 (2006)	23	a	0,6 99	Pipéronal 171 AchE (anguille électrique)	118
Mariano 2 (2006)	18	a	0,5 95	Pipéronal 171 AchE (anguille électrique)	119
Stoltz (2007)	11	a	1,0 97,5	Pipéronal 171 <i>L</i> -(-)-éphédrine	121
Hayes 2 (2008)	21	a	0,4 78,8	Pipéronal 171 <i>L</i> -proline	123
Tu (2010)	13	a	3,3 99	Pipéronal 171 Acide phosphorique 522	125
Renaud (2012)	25	a	0,9 97	Pipéronal 171 Cat. de Noyori (<i>S,S</i>)- 533	126

* Pour le cycle A ; nd : non donné

2) Synthèses utilisant la déconnexion C₄-C₁₃ dans la formation du cycle B



a) Synthèse de Weinreb

En 1972, Weinreb et Auerbach décrivent la première synthèse totale de la céphalotaxine **1**,¹⁶² à partir du pipéronal **171** qui fournit le système méthylènebenzodioxole et l'atome C₁₁. La stratégie proposée permet d'accéder à la céphalotaxine racémique **1** en 13 étapes avec un rendement global de 2,7% (Schéma 11).

A partir du pipéronal **171**, Weinreb reprend la synthèse de Shepard¹⁶³ pour accéder à l'acide carboxylique correspondant **174** dont l'estérification par le prolinol **173** apporte le cycle C. La fonction hydroxyle de **174** est oxydée en aldéhyde, ce qui permet ensuite de former le cycle B *via* une réaction de Friedel et Crafts, Weinreb construit ainsi le système ABC en 10 étapes avec un rendement de 24%. L'énamine **175** est acylée par l'anhydride mixte **176** qui apporte les trois derniers atomes de carbone. La dicétone **177** est alors cyclisée selon la méthode de Muxfeld¹⁶⁴ pour donner la desméthylcéphalotaxinone **35**. En présence de 2,2-diméthoxypropane **179** et d'APTS, se forme régiosélectivement la céphalotaxinone **22**. Finalement la réduction au borohydrure de sodium de la fonction cétone de **22** permet d'accéder à la céphalotaxine **1** sous sa forme racémique. Notons qu'il propose également un dédoublement utilisant l'acide *L*-tartrique pour obtenir la (-)-céphalotaxine **1** naturelle optiquement active.

Par la suite, en collaboration avec le groupe Merck et pour le développement de l'HHT avec le NIH, la synthèse de la céphalotaxine a été considérablement simplifiée dans ses traitements et purifications, permettant d'augmenter le rendement global de 4,5% à 10,4%. Par exemple, la transformation de la desméthylcéphalotaxinone **35** en céphalotaxinone **22** est quantitative.¹⁶⁵

162 (a) J. Auerbach, S. M. Weinreb, *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 7172-7173 (b) S. M. Weinreb, J. Auerbach, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 2503-2506.

163 E. R. Shepard, H. D. Porter, C. K. Noth, C. K. Simmans, *J. Org. Chem.*, **1952**, 17, 568-576.

164 H. Muxfeldt, M. Weigele, V. Van Rheezen, *J. Org. Chem.*, **1965**, 30, 3573-3574.

165 S. M. Weinreb, communication privée. Contrat N° NIH-72-2002.

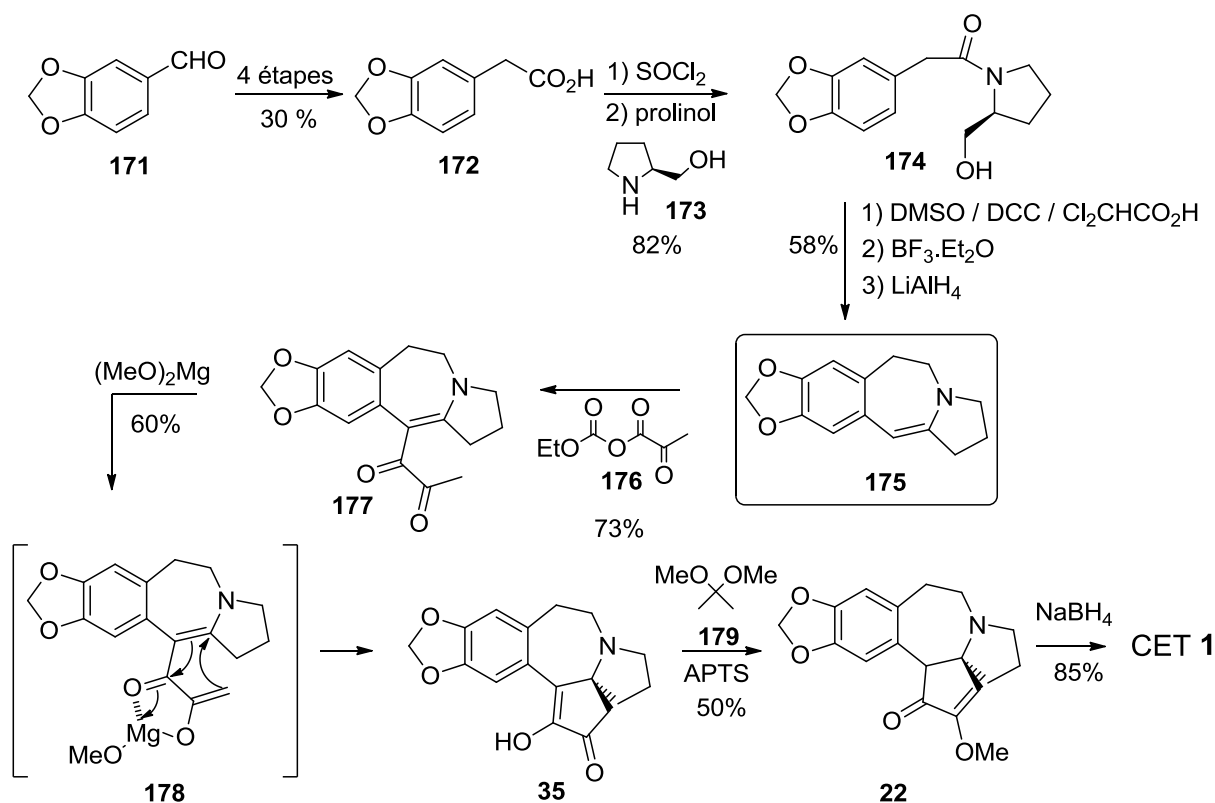


Schéma 11: Synthèse de Weinreb

Par la suite, différents auteurs (Dolby¹⁶⁶ en 1972, Weinstein¹⁶⁷ en 1975, Snieckus¹⁶⁸ en 1976 et Danishefsky¹⁶⁹ en 1990) s'inspireront de cette voie d'accès pour développer des synthèses formelles de la céphalotaxine **1** en proposant des stratégies différentes pour l'élaboration de l'énamine **175**.

a1) Synthèse formelle de Dolby

En 1972, Dolby prépare l'énamine **175** en 8 étapes à partir du pipéronal **171** avec un rendement global de 3%.¹⁶⁶ Le cycle B est formé par fermeture de la liaison C₁₁-C₁₂ induite par activation photochimique (**181**→**182**, Schéma 12). La fonction lactame est ensuite réduite par LiAlH₄ et la double liaison endocyclique est formée par oxydation à l'acétate de mercure.

166 L. J. Dolby, S. J. Nelson, D. Senkovich, *J. Org. Chem.*, **1972**, 37, 3691-3695.

167 B. Weinstein, A. R. Craig, *J. Org. Chem.*, **1976**, 41, 875-878.

168 I. Tse, V. Snieckus, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1976**, 505-506.

169 F. G. Fang, M. E. Maier, S. J. Danishefsky, *J. Org. Chem.*, **1990**, 55, 831-838.

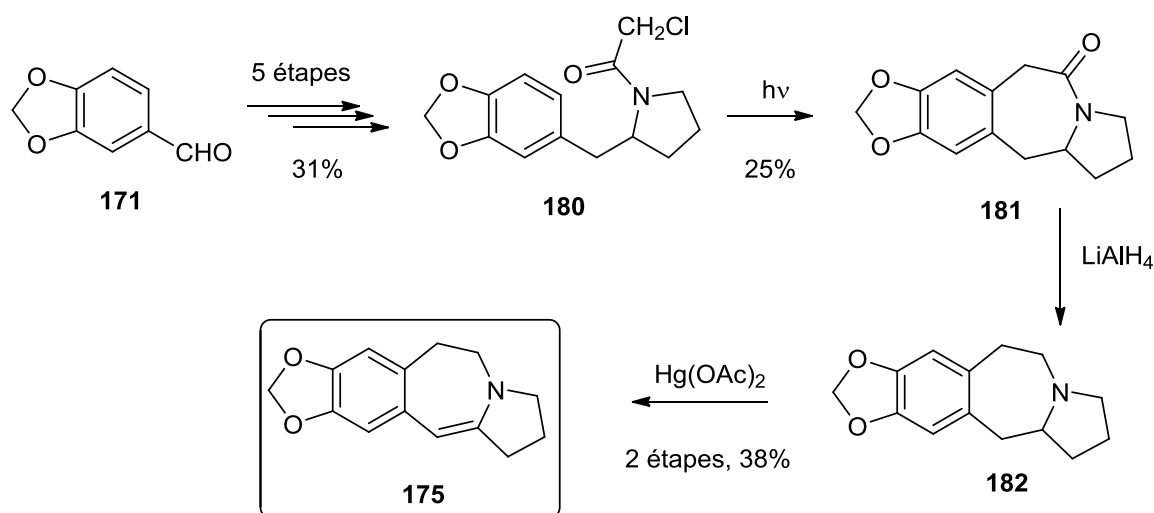


Schéma 12 : Synthèse formelle de Dolby

a2) Synthèse formelle de Weinstein

En 1976, Weinstein propose un accès à cette même énamine **175** en 9 étapes à partir du benzodioxole **183** avec un rendement global de 15%.^{167,168} Le cycle B est ici formé par réaction de Friedel et Crafts intramoléculaire du précurseur **184**. Le cycle pyrrole et le carbonyle du composé **185** sont réduits en deux étapes pour donner l'amine **182** qui est oxydée en énamine **175** selon la méthode développée par Dolby (Schéma 13).

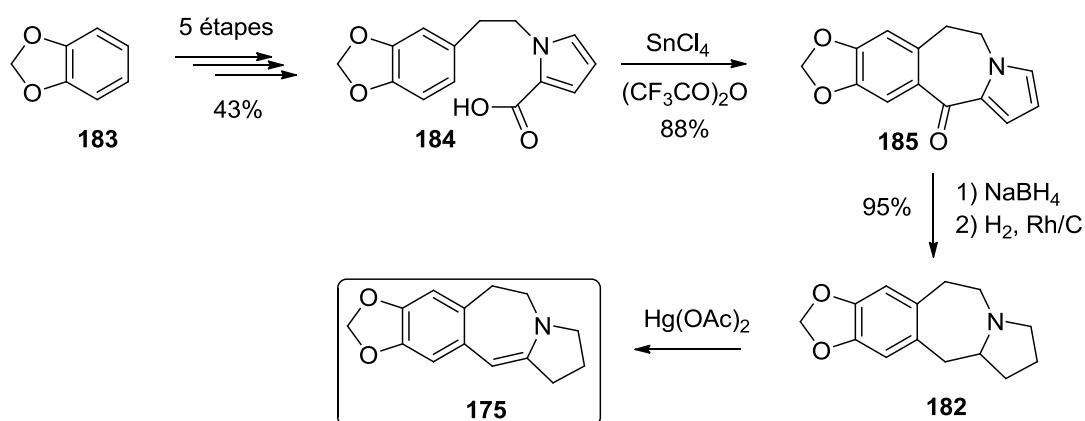


Schéma 13 : Synthèse formelle de Weinstein

a3) Synthèse formelle de Snieckus

En 1976, Snieckus obtient l'énamine **175** en 10 étapes à partir du pipéronal **171** via l'amine **186**,^{170, 171} avec un rendement global de 9%. L'étape-clé est une cyclisation

170 N. A. Lange, W. E. Hamberger, *J. Am. Chem. Soc.*, **1931**, 53, 3685-3687.

171 M. Erne, F. Ramirez, *Helv. Chim. Acta*, **1950**, 912-916.

radicalaire photochimique du dérivé iodé **187**. La diénamide **188** obtenue est ensuite réduite en deux étapes pour fournir l'amine **182**. Celle-ci est ensuite transformée en l'énamine **175** selon le protocole décrit précédemment (Schéma 14).

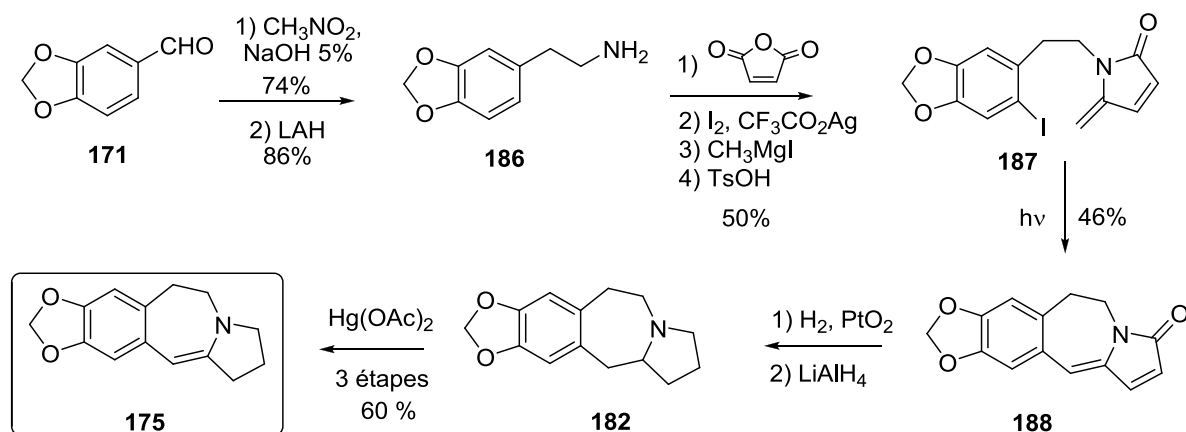


Schéma 14 : Synthèse formelle de Snieckus

a4) Synthèse formelle de Danishefsky

En 1990, Danishefsky synthétise l'énamine **175** en utilisant un couplage au tungstène hexacarbonyle pour former le cycle B (**191**→**192**, Schéma 15). Pour obtenir son précurseur, il transforme la norhydrastinine **189**^{169,172} obtenue en 7 étapes et 8% de rendement à partir du pipéronal **171** via l'acide homopipéronylique **172**. Cette synthèse de l'énamine **175** s'effectue en 14 étapes avec un rendement global de 2,4%, permettant d'accéder à la CET en 18 étapes et 0,44% de rendement global.

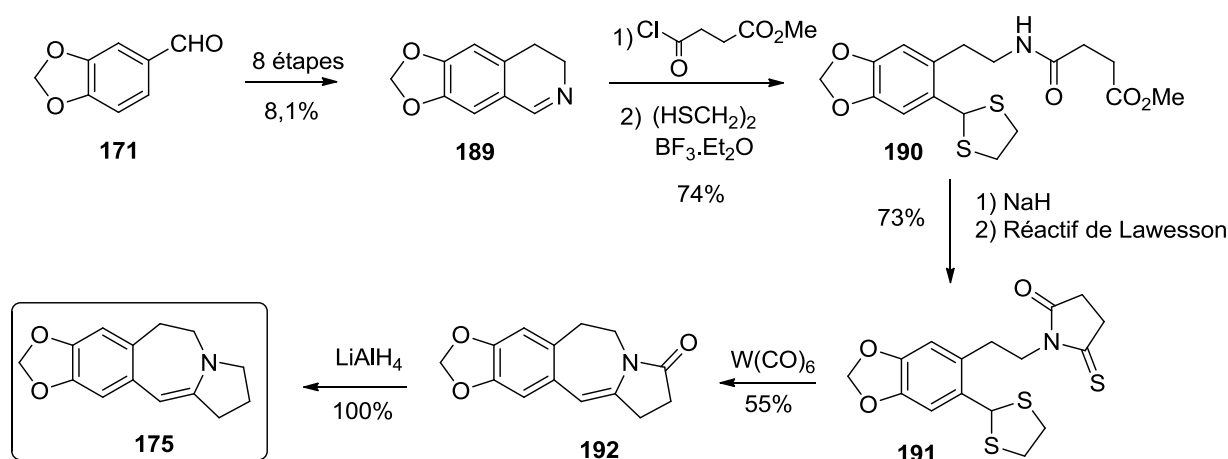


Schéma 15 : Synthèse formelle de Danishefsky

172 R. Marsden, D. B. Maclean, *Can. J. Chem.*, **1984**, 62, 1392-1399. b) C. E. Slemon, L. C. Hellwig, J-P. Ruder, E. W. Hoskins, D. B. Maclean, *Can. J. Chem.*, **1981**, 59, 3055-3060.

a5) Synthèse formelle de Li

En 2005 Li et ses collaborateurs ont proposé une synthèse formelle de l'intermédiaire de Dolby-Weinreb, à partir de l'amino-cétone cyclique allylée **193** (Schéma 31, p 108).¹⁷³ La dione correspondante **194** est obtenue par oxydation de Wacker avec un rendement de 82%. De façon inattendue, au lieu de fournir l'alkylation de l'énamine par l'énol **195**, la réduction de l'amine-dione **194** avec la poudre de zinc dans l'acide acétique glacial à chaud produit majoritairement la benzazépine de Dolby **196**¹⁶⁶ avec un rendement de 50% accompagnée de l'amino-cétone **197** (15%). La déshydrogénation oxydante de **196** par Hg(OAc)₂ en solution aqueuse d'acide acétique à chaud fournit l'énamine **175** avec 34% de rendement. La (±)-CET **1** pourrait être obtenue après 4 étapes supplémentaires pour finaliser une synthèse de la CET en 16 étapes et 0,5% de rendement global (Schéma 16).

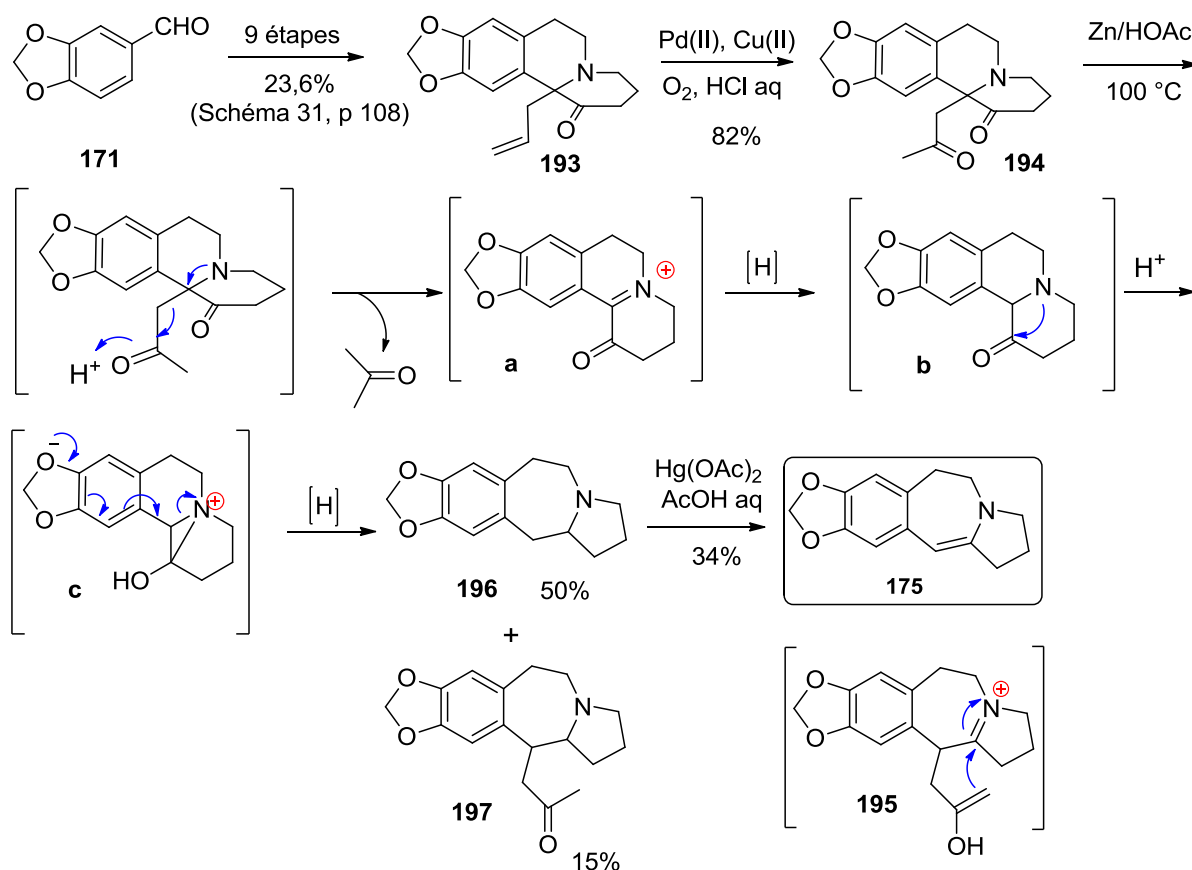


Schéma 16: Synthèse formelle de Li (2005)

b) Synthèse de Semmelhack

En 1972, Semmelhack élabore une synthèse convergente de la céphalotaxine qui repose sur la condensation d'une unité spiranique **203** précurseur des cycles C et D avec le composé

¹⁷³ B-C. Ma, Y-Q. Wang, W-D. Z. Li, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 4528-4530.

204 possédant la chaîne C₁₀-C₁₁ portée par le noyau benzodioxole et un atome d'iode en position 13 (Schéma 17).^{174,160a} Le cycle B est formé en fin de synthèse par cyclisation d'un intermédiaire **205** comportant tous les atomes du squelette de la CET **1**.

Le système azaspiranique est formé à partir de la 2-pyrrolidone **198**: après protection de l'atome d'azote, les chaînes allyliques introduites sur l'intermédiaire **199** sont transformées en deux chaînes acétate de méthyle par une séquence ozonolyse-oxydation-estérification pour donner **201**. Les deux fonctions esters sont susceptibles d'être engagées dans une réaction d'acyloïne suivie d'une oxydation par le brome qui permet d'accéder au composé spiranique **202**. Ce dernier est traité au diazométhane pour donner l'intermédiaire clé **203** en 9 étapes et 14% de rendement à partir de la pyrrolidone **198**.

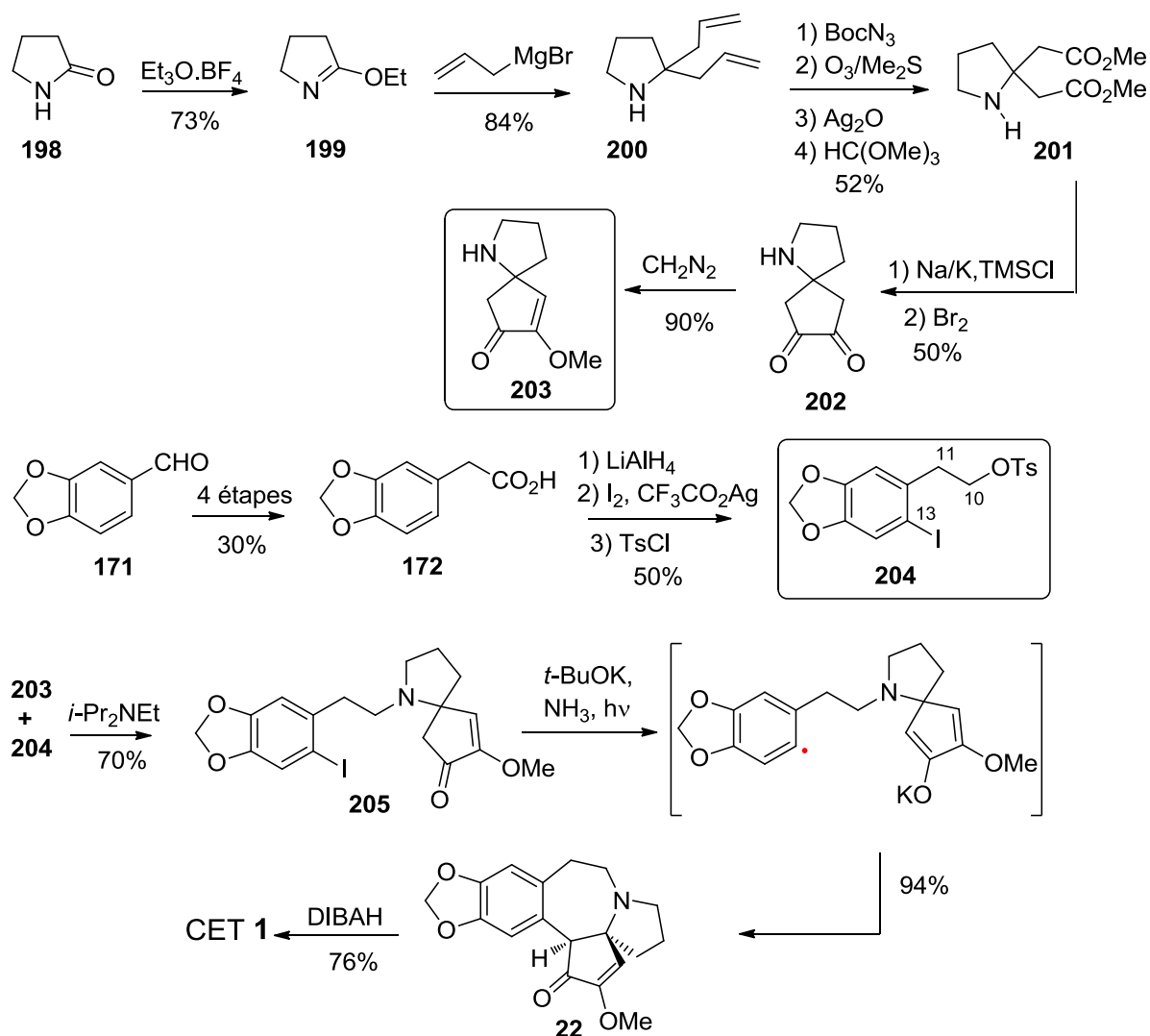


Schéma 17 : Synthèse de Semmelhack

174 (a) M. F. Semmelhack, R. D. Stauffer, T. D. Rogerson, *Tetrahedron Lett.*, **1973**, 4519-4522. (b) M. F. Semmelhack, B. P. Chong, R. D. Stauffer, T. D. Rogerson, A. Chong, L. D. Jones, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 2507-2516.

Le tosylate **204**, quant à lui, est formé à partir du pipéronal **171** en reprenant la synthèse de Shepard.¹⁶³ Semmelhack accède ainsi à l'acide carboxylique **172** qui est réduit par LiAlH₄. Après iodation du noyau aromatique (I₂ en présence de trifluoroacétate d'argent), la fonction hydroxyle libre est convertie en ester *para*-toluène sulfonique pour donner **204** avec 25 % de rendement global.

En présence de base de Hünig, **203** et **204** sont couplés pour donner l'iodé **205**. Plusieurs méthodes ont été développées par Semmelhack pour mener à bien la cyclisation de **205**,¹⁶⁸ la plus efficace reste celle mettant en jeu une substitution nucléophile aromatique initiée photochimiquement en présence de *tert*-butylate de potassium. La céphalotaxinone **22** ainsi obtenue est réduite en CET **1** par le DIBAH pour compléter une synthèse en 12 étapes avec rendement global de 7,2%.

c) Synthèse de Hanaoka

En 1986, Hanaoka propose une synthèse totale de la céphalotaxine **1** selon une approche semblable à celle de Weinreb en accédant rapidement au système pyrrolobenzazépine ABC **209**, et en construisant ensuite le cycle D (Schéma 18).¹⁷⁵

A partir de l'acide homovératrique **206**, le cycle C est introduit par action successive de SOCl₂ puis du prolinat d'éthyle **207**, pour donner le composé **208**. La saponification de ce dernier fournit un acide carboxylique qui est engagé dans une réaction de cyclisation intramoléculaire en présence d'acide polyphosphorique (APP) pour aboutir au composé **209**, porteur des cycles A, B et C. L'énolate issu de **209** par action de NaH réagit sur le 2,3-dichloropropène **210** selon une *O*-alkylation. L'éther d'énol **211** ainsi formé conduit au composé **212** par réarrangement de Claisen. Le cycle D est formé par réduction de la cétone de **212** puis réaction intramoléculaire de la double liaison sur le carbocation issu de l'élimination en milieu acide du groupe hydroxyle de **213**. Le point faible de cette synthèse est la formation du dioxolane obtenu par action successive sur **214** de BBr₃ puis du dibromométhane en présence de CsF avec un rendement de 24%. L'oxydation à l'iodosobenzène¹⁷⁶ de l'énolate issu de **215** par action du méthylate de potassium fournit **216**. La CET **1** est ensuite obtenue après réduction de la fonction amide par LiAlH₄ puis formation de l'éther d'énol en présence d'APTS. Cette synthèse est ainsi effectuée en 12 étapes avec un rendement global de 6,2 %.

175 S. Yasuda, T. Yamada, M. Hanaoka, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, 27, 2023-2026.

176 R. M. Moriarty, H. Hu, B. P. Gupta, *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 1283.

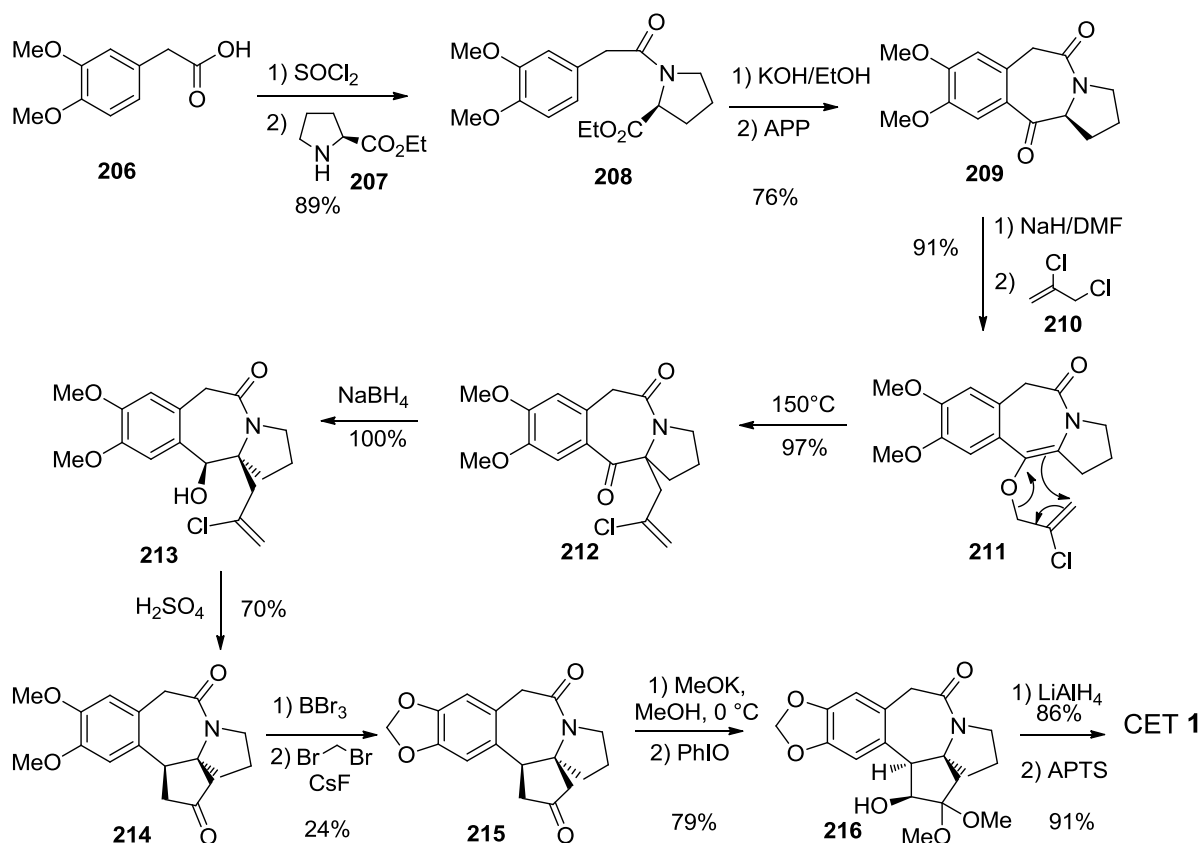


Schéma 18 : Synthèse de Hanaoka

d) Synthèse de Kuehne

En 1988 Kuehne décrit une synthèse totale de la CET **1** dont l'étape clé consiste en un réarrangement oxydatif de l'énamidolactame **221** pour former le bicyclic CD azaspiranique (Schéma 19).¹⁷⁷

A partir du pipéronal **171**, Kuehne accède, par réduction du nitrostyrène **217**, à l'amine **186**. Celle-ci est condensée sur la cyclopentanone fonctionnalisée **218** pour former l'imine **219** dont l'énamine tautomère **220** subit une lactamisation par action de l'acide phosphorique à chaud. L'énaminolactame **221** ainsi formé subit un réarrangement oxydatif en présence de $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ pour donner le composé **223**. Par action successive du $\text{PdCl}_2(\text{PhCN})_2$ puis de l'isopropoxyde d'aluminium, Kuehne accède à l'alcool **224** qui est cyclisé en présence de SnCl_4 pour donner **225**. La double liaison du cycle D est oxydée par le tétraoxyde d'osmium en présence de *N*-oxyde de méthylmorpholine pour donner le diol **226** qui est oxydé à son tour pour aboutir à la dicétone **227**. Celle-ci est ensuite convertie régiosélectivement en éther d'énol méthylé par action du triméthylsilyl-méthyléther en présence d'acide

177 M. E. Kuehne, W. G. Bornmann, W. H. Parsons, T. D. Spitzer, J. F. Blount, J. Zubieta, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 3439-3450.

trifluorométhanesulfonique et réduite par LiAlH_4 pour aboutir à la céphalotaxine **1**. Cette synthèse est menée en 11 étapes avec un rendement global de 11,2 %.

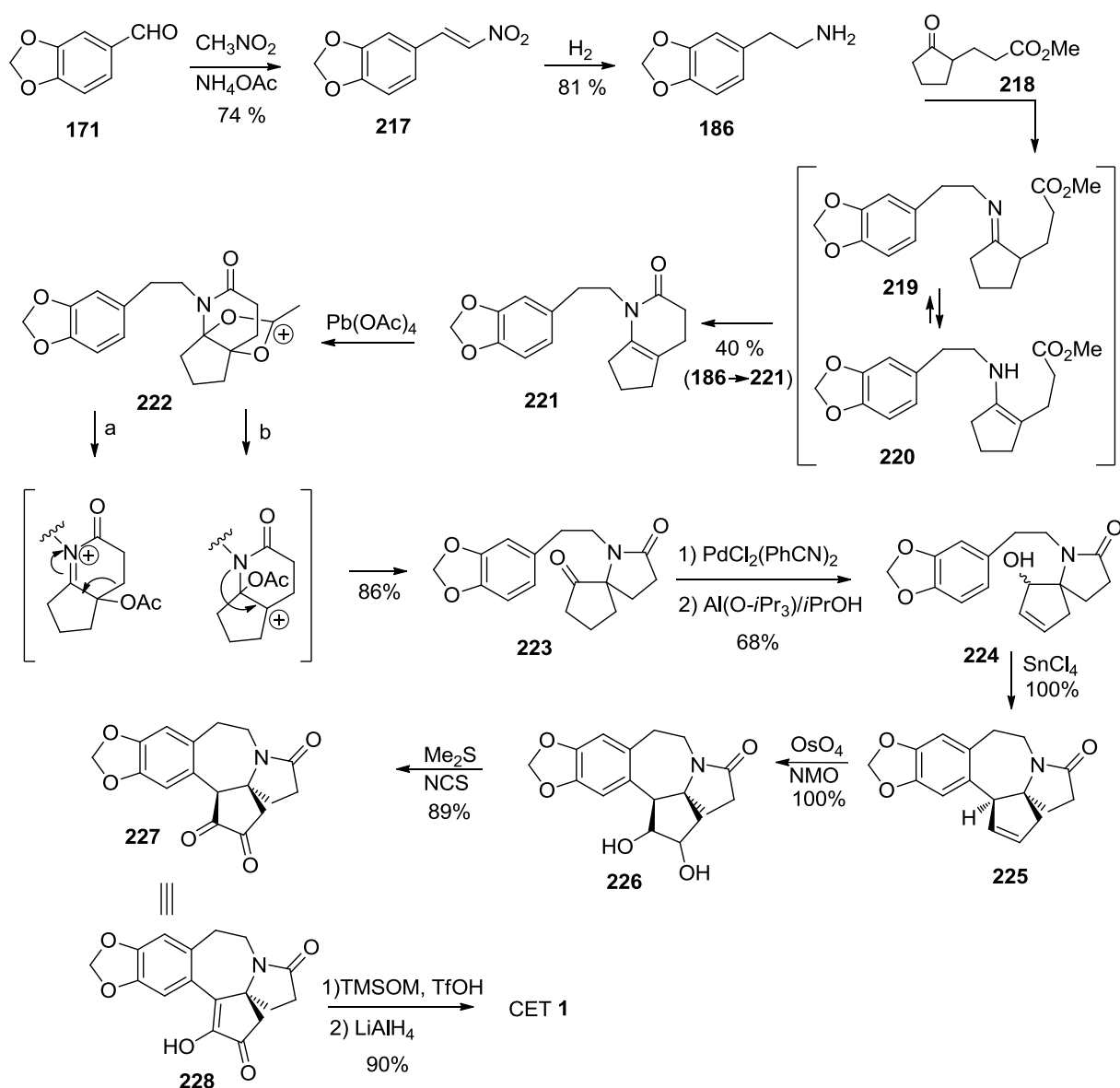


Schéma 19 : Synthèse de Kuehne

e) Synthèse de Tietze

En 1997, Tietze propose une synthèse de la céphalotaxine utilisant deux réactions consécutives catalysées par le palladium pour la construction successive des cycles C et B (**235** → **237**, Schéma 20).¹⁷⁸

178 (a) L. F. Tietze, H. Schirok, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1997**, 36, 1124-1125 (b) L. F. Tietze, H. Schirok, M. Wöhrmann, *Chem. Eur. J.*, **2000**, 6, 510-518.

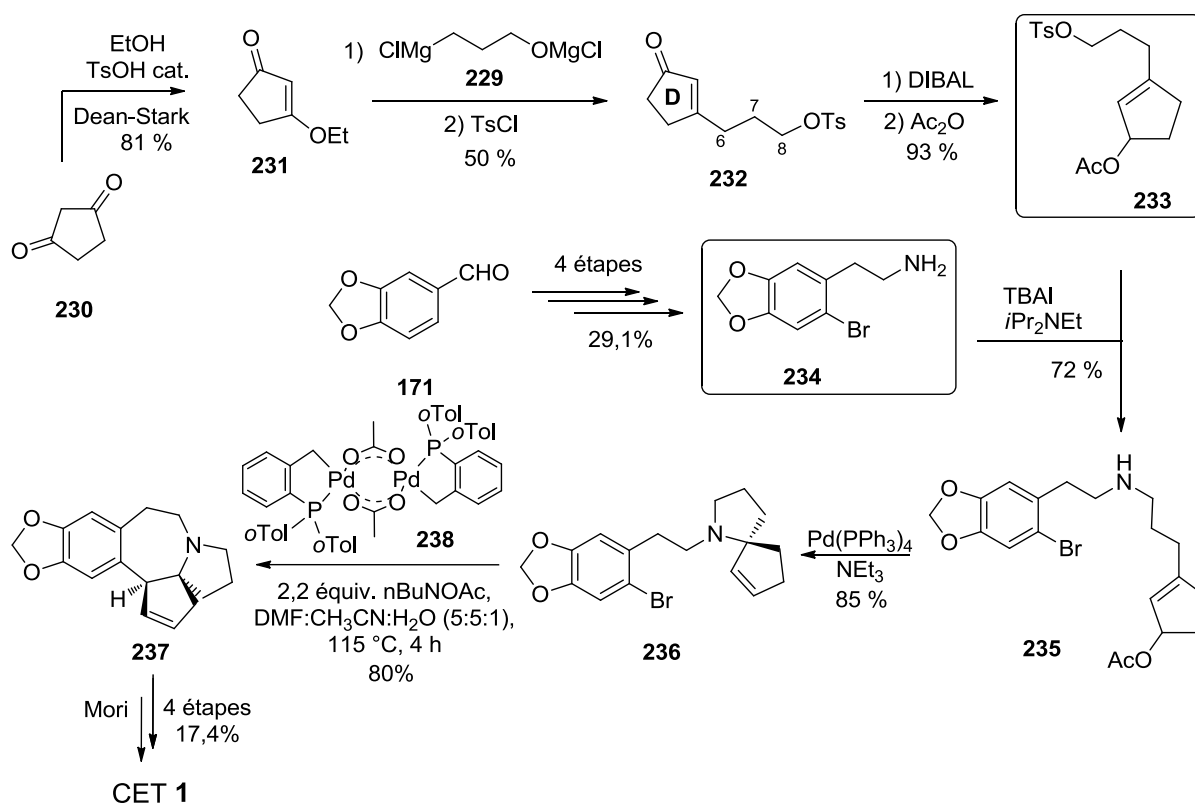


Schéma 20 : Synthèse de Tietze

Par condensation entre l'organomagnésien **229** dérivé du 3-chloropentanol et l'éther d'énol **231** provenant de la cyclopentanedione **230**, Tietze prépare le composé **232** portant le cycle D et les atomes C₆, C₇ et C₈ du futur cycle C. La réduction de la fonction cétone de **232** suivie de l'acétylation de l'hydroxyle formé fournit l'acétate allylique **233**. L'amine **234** est préparée en 4 étapes à partir du pipéronal **171**. Le couplage entre l'amine **234** et le tosylate **233**, *via* l'iodé correspondant formé *in situ* en présence de TBAI, conduit au composé **235** qui possède les cycles A et D ainsi que les atomes nécessaires à la formation des cycles B et C. Le déplacement intramoléculaire de l'acétate allylique par l'amine secondaire selon une réaction de Tsuji-Trost catalysée par le palladium 0 fournit le composé **235**. Le cycle B est ensuite formé par réaction de Heck en utilisant le catalyseur d'Hermann **238**.¹⁷⁹ Cette réaction de cyclisation est hautement stéréosélective, la double liaison étant exclusivement attaquée en *syn* par rapport à l'atome d'azote. Finalement, le composé **237** peut être converti en céphalotaxine **1** selon la séquence établie par Mori,¹⁸⁰ achevant une synthèse en 12 étapes avec 3,3% de rendement global.

179 W. A. Herrmann, C. Brossmer, K. Ofele, C. P. Reisinger, T. Priermeier, M. Beller, H. Fischer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1995**, *34*, 1844-1848.

180 N. Isono, M. Mori, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 115-119.

f) Synthèse de Suga et Yoshida

En 2002, Suga propose une synthèse de la céphalotaxine **1** dont l'originalité réside dans la formation du centre spiranique par réaction de métathèse d'une pyrrolidine hautement fonctionnalisée préparée par voie électrochimique (Schéma 21).¹⁸¹ La suite de la synthèse reprend les résultats de Mori¹⁷⁷ et de Tietze¹⁷⁸.

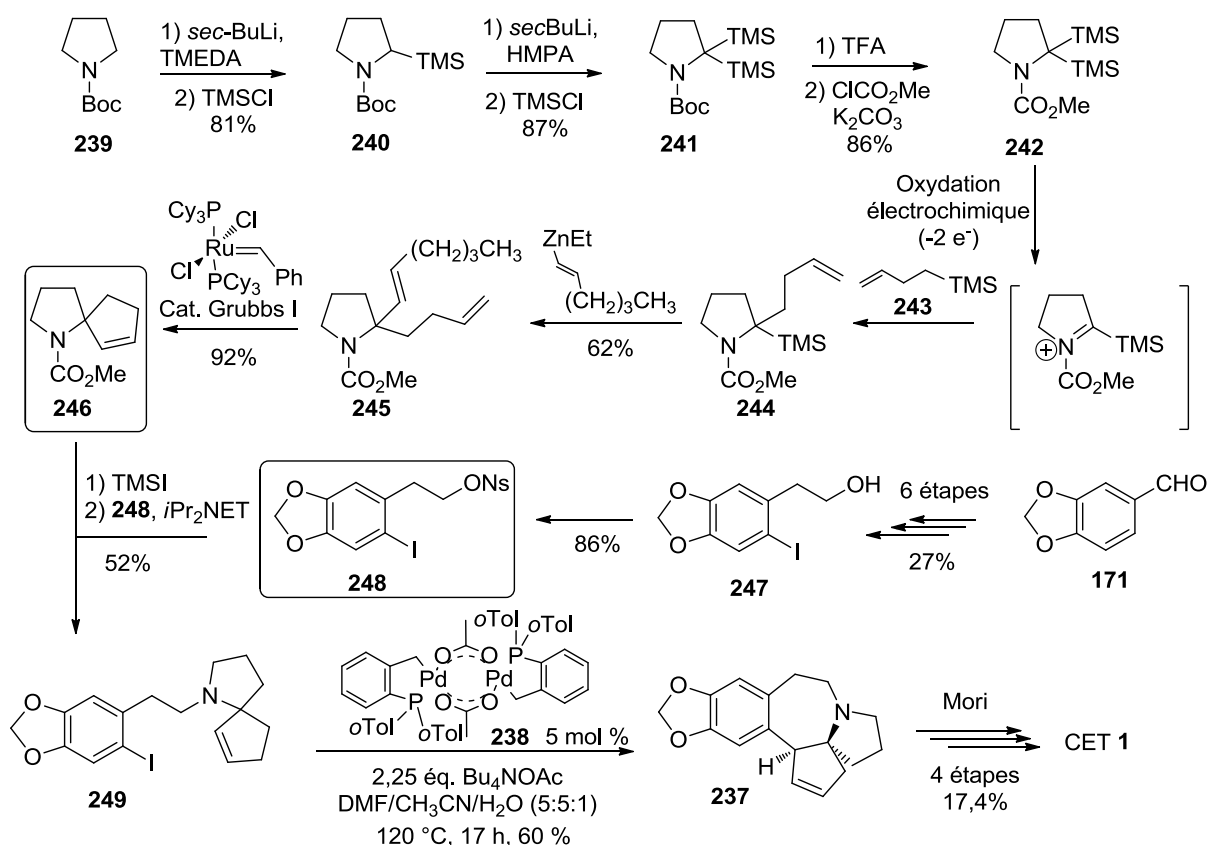


Schéma 21 : Synthèse de Suga et Yoshida

A partir de la pyrrolidine protégée **239**, le composé **240** est préparé selon la méthode décrite par Beak par déprotonation au *sec*-BuLi puis piégeage au TMSCl.¹⁸² Une réaction similaire permet l'introduction d'un deuxième groupement TMS. Le carbamate de *tert*-butyle **241** est ensuite transformé en carbamate de méthyle **242**. L'oxydation électrochimique menée en présence du couple alkyltriméthylsilane **243** / TBAF permet la substitution du groupement TMS par une chaîne allyle *via* l'iminium correspondant (**242** → **244**). La même séquence réactionnelle utilisant un organozincique permet d'accéder au diène **245**. Celui-ci est ensuite engagé dans une réaction de métathèse avec le catalyseur de Grubbs I [dichlorure de

181 S. Suga, M. Watanabe, J.-I. Yoshida, *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 14824-14825.

182 P. Beak, W.-K. Lee, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 1197-1200.

bis(tricyclohexylphosphine)-benzylidineruthénium(IV)]¹⁸³ pour obtenir le dérivé spiranique **246**. Le nosylate iodé **248** est préparé selon la méthode de Semmelhack à partir du pipéronal **171**.¹⁷⁴ Le couplage des deux sous-unités **246** et **248** conduit au composé **249** qui est engagé dans une réaction de Heck intramoléculaire dans les conditions de Tietze pour fournir le dérivé tétracyclique **237**. Celui-ci peut être converti en CET **1** selon la séquence réactionnelle décrite par Mori,¹⁸⁰ réalisant une synthèse formelle en 17 étapes et 1,9% de rendement global.

g) Synthèse de Stoltz

Une voie concise vers la (±)-CET **1** a été développée par Stoltz qui forme le fragment azaspiranique **256** par hétérocyclisation oxydante catalysée par le Pd(II) (Schéma 22).¹⁸⁴ Cette synthèse commence un réarrangement de Johnson-Claisen de l'alcool allylique **250** qui, traité par l'orthoacétate de triéthyle, fournit l'ester d'éthyle **251** facilement transformé en amide primaire **252** par saponification à la lithine suivie de la formation de l'amide à l'aide du réactif de Staab (1,1'-carbonyldiimidazole) avec 64% de rendement en 3 étapes (Schéma 21). L'hétérocyclisation oxydante de **252** est efficacement effectuée par le triflate de palladium dans un mélange de DMF/DMSO avec un rendement de 88% en composé spiroamide **253** qui est réduit par LiAlH₄ pour fournir l'unité azaspiranique attendue **256** (voie A, 6 étapes, 18% RG). Alternativement, l'ester **251** est réduit en alcool par LiAlH₄, puis transformé en deux étapes en sulfonamide **254** qui par cyclisation oxydante fournit le tosylamide spirocyclique **255** avec un rendement de 99% à l'échelle du gramme. Un clivage réducteur du groupe tosylé par LiAlH₄ conduit à l'amine spirocyclique attendue **256** (voie B, 7 étapes, 25% RG).

L'acide carboxylique bromé **257** issu de la bromation régiosélective de l'acide homopipéronylique **172** avec un rendement de 97% (Schéma 22) est condensé à l'azaspirocyclique **256** fournissant l'amide **258** avec 85% de rendement, qui par réduction par l'hydruure d'aluminium conduit à l'amine tertiaire souhaitée **259** avec un rendement de 70%, sans déshalogénéation simultanée (voie C, 7 étapes, 17,3% RG). Une voie alternative de couplage de l'azaspirocycle **256** consiste à convertir l'acide carboxylique **257** en amide de Weinreb correspondant qui est réduit par le DIBAL pour donner l'aldéhyde **260** avec un rendement de 84% dont l'animation réductrice avec l'azaspirocycle **256** en présence de cyanoborohydrure de sodium forme l'intermédiaire de Tietze non cyclisé **259** avec un rendement de 85% (voie D, 8 étapes, 18,7 RG). Cette synthèse formelle conduit à l'intermédiaire de Tietze non cyclisé **259** en 8 étapes et 17,1% par la voie (A+C) ou 21,3%

183 Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413-4450.

184 Q. Liu. E. M. Ferreira. B. M. Stoltz, *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 7352-7358.

par la voie (B+D), qui peut être transformé en (±)-CET **1** en 5 étapes et 14% de rendement, réalisant une synthèse formelle en 13 étapes avec 1,8% ou 2,9% de rendement global, respectivement.

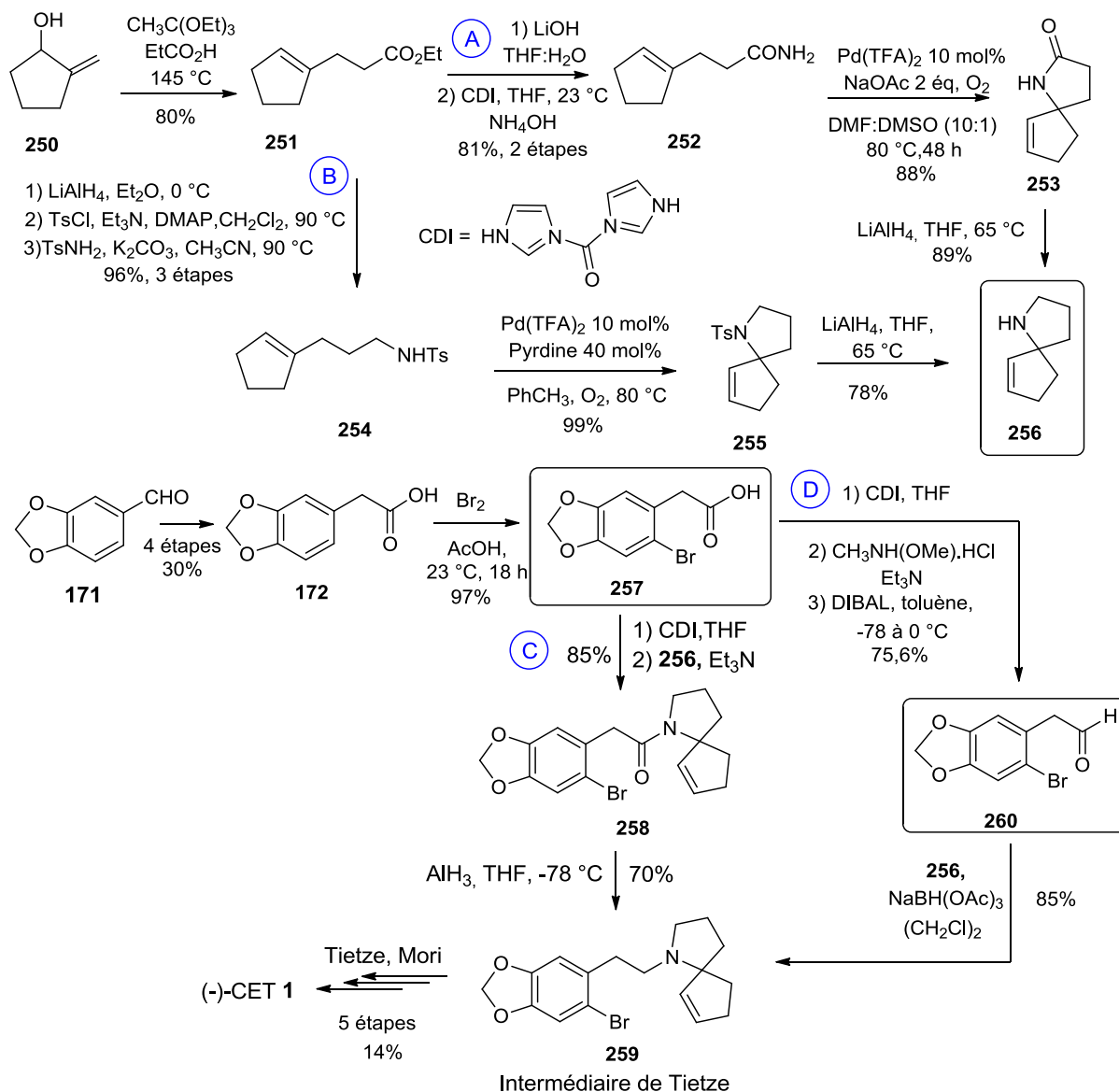


Schéma 22: Synthèse de Stoltz

h) Synthèse de Li

En 2007, Li développe une nouvelle synthèse formelle de la CET **1** dont l'étape clé est une cyclisation de Friedel-Crafts de l'amidospirocyclopentenone **267** catalysée par un acide protique, l'acide triflique.¹⁸⁵ Les amidospirocyclopenténones **265** et **267** sont préparées

¹⁸⁵ W. Z. Li, X. W. Wang, *Org. Lett.*, **2007**, 9, 1211-1214.

facilement par couplage de l'énone azaspiranique **262** dérivée de la *L*-proline en 5 étapes,¹⁸⁶ avec les chlorures d'acide **264** et **266** avec un rendement de 91%. La cyclisation de type Friedel Crafts de l'énone **267** ayant un noyau 3,4-diméthoxyaryle par traitement avec l'acide triflique à température ambiante conduit au produit de cyclisation **214** avec un rendement de 93%, alors que l'énone **265** ayant un groupement méthylènedioxyaryle est inopérante, ce noyau aromatique étant moins riche en électrons que celui de **265**. Cet intermédiaire **214** précédemment obtenu par Hanaoka¹⁷⁵ permet d'accéder à la CET en 4 étapes. Li décrit ainsi une synthèse formelle de la (±)-CET **1** en 13 étapes et 4% de rendement global (Schéma 23).

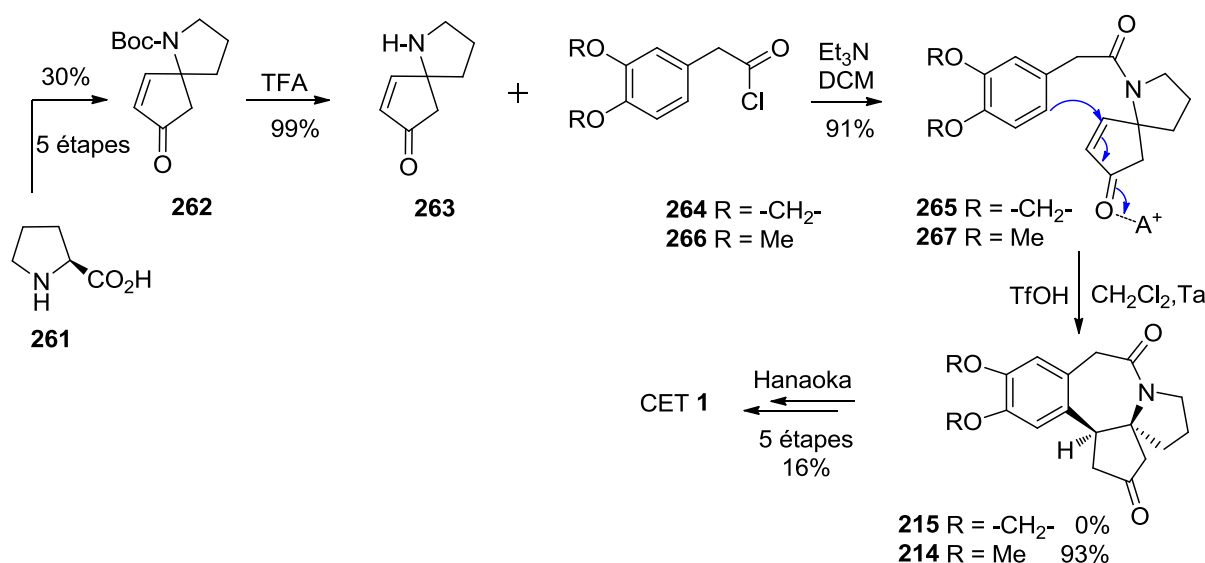


Schéma 23: Synthèse de Li

i) Synthèse de Yang et Liu

En 2009, Liu et Yang ont utilisé une séquence réarrangement-[2,3] de Stevens/lactonisation en milieu acide (**269** → **271**) pour accéder efficacement, via la spirolactone **272**, à l'intermédiaire de Li **267**.¹⁸⁷ La spirolactone **271** est synthétisée à partir du prolinat de méthyle **268** par N-allylation avec le bromure d'allyle fournissant le composé **269** qui, engagé dans un réarrangement-[2,3] de Stevens de l'ammonium quaternaire formé avec le bromure de benzyle donne la pyrrolidine N-benzylée **270** qui est lactonisée en milieu acide avec 78% de rendement pour les 3 étapes (Schéma 24). Après débenzylation de **270** par hydrogénation catalytique, la condensation de la spirolactone **272** avec le chlorure de l'acide 3,4-diméthoxyphénacétique **266** produit le l'amide-spirolactone **273** qui est réduit sélectivement par LiBH₄ pour donner le diol **274** avec 94% de rendement. Par oxydation de

186 M. Ikeda, M. Okano, K. Kosaka, M. Kido, H. Ishibashi, *Chem. Pharm. Bull.*, **1993**, 41, 276-281.

187 M. R. Sun, H. T. Lu, Y. Z. Wang, H. Yang, H. M. Liu, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 2213-2216.

Swern, le diol **274** fournit le céto-aldéhyde **275** conduisant à la spirocyclopenténone amide **267** désirée par action de K_2CO_3 dans un mélange méthanol-eau avec 74% de rendement. Cette synthèse formelle permet d'accéder à la céphalotaxine en 15 étapes et 7,1% de rendement global.

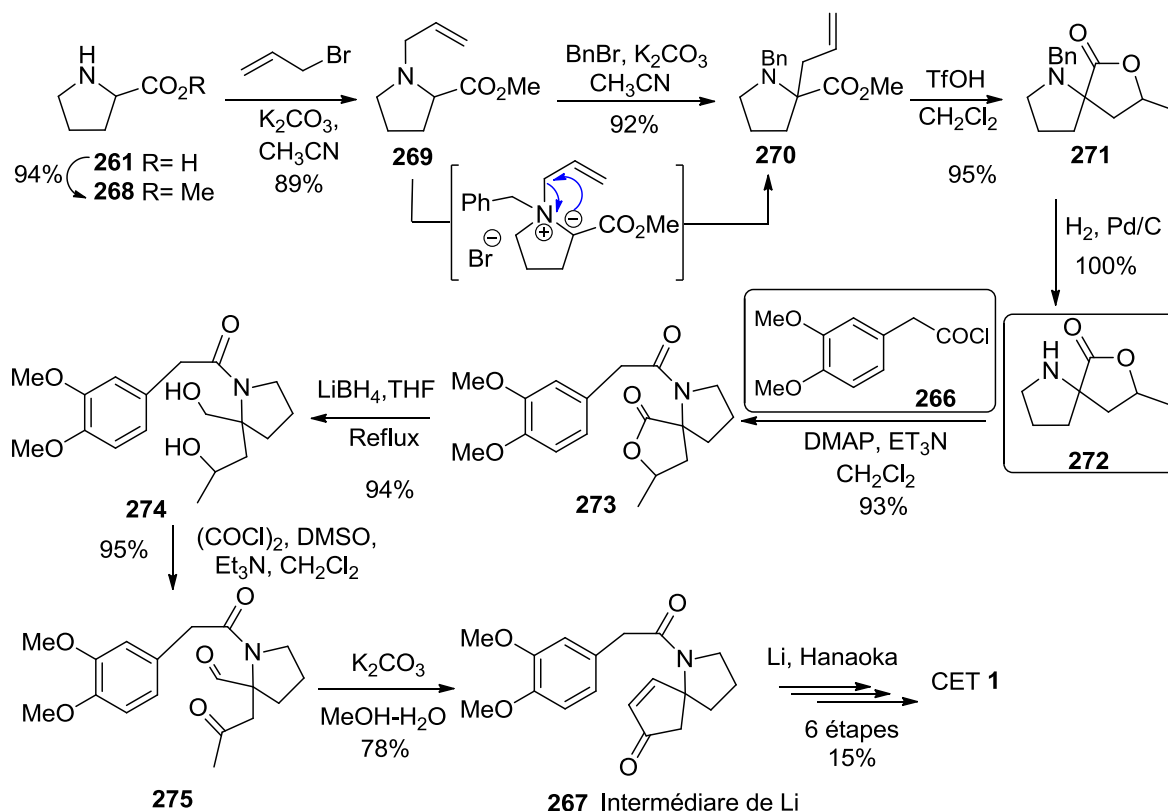


Schéma 24 : Synthèse de Yang et Liu

j) Synthèse de Bubnov

Bubnov et ses collaborateurs ont développé une synthèse formelle de la céphalotaxine **1** racémique dont l'unité azaspiranique CD est construite par métathèse cyclisante.¹⁸⁸ La pyrrolidone **198** est diallylée en pyrrolidine **200** par le triallylborane puis protégée à l'azote avant la cyclisation par métathèse en utilisant le catalyseur de Grubbs I pour conduire au bicyclic azaspiranique **276** avec un rendement de 97% pour les trois étapes. Par traitement de **276** avec le NBS à chaud, le carbamate bromé tricyclique **277** est obtenu avec un rendement de 80% (Schéma 25). La déshydrobromation par le *tert*-butylate de potassium dans le THF conduit à l'oléfine spiranique **278** avec un rendement de 93%. Une isomérisation de la double liaison catalysée par le bromure de magnésium fournit le seul isomère **279**. L'hydrolyse facile

188 N.Y. Kuznetsov, G. D. Kolomnikova, V. N. Khrustalev, D. G. Golovanov, Y.N. Bubnov, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5647-5655.

du carbamate **279** suivie du couplage avec le chlorure de l'acide 3,4-diméthoxyphénylacétique **266** conduit à l'amide **280** avec 78% de rendement. L'intermédiaire de Mori **282** est obtenu avec un rendement de 77% par réduction de la fonction amide suivie de la cyclisation à l'acide polyphosphorique. Par la séquence de Mori en 6 étapes,¹⁸⁰ Bubnov propose une synthèse formelle de la (±)-CET **1** en 16 étapes avec un rendement global de 2,6%.

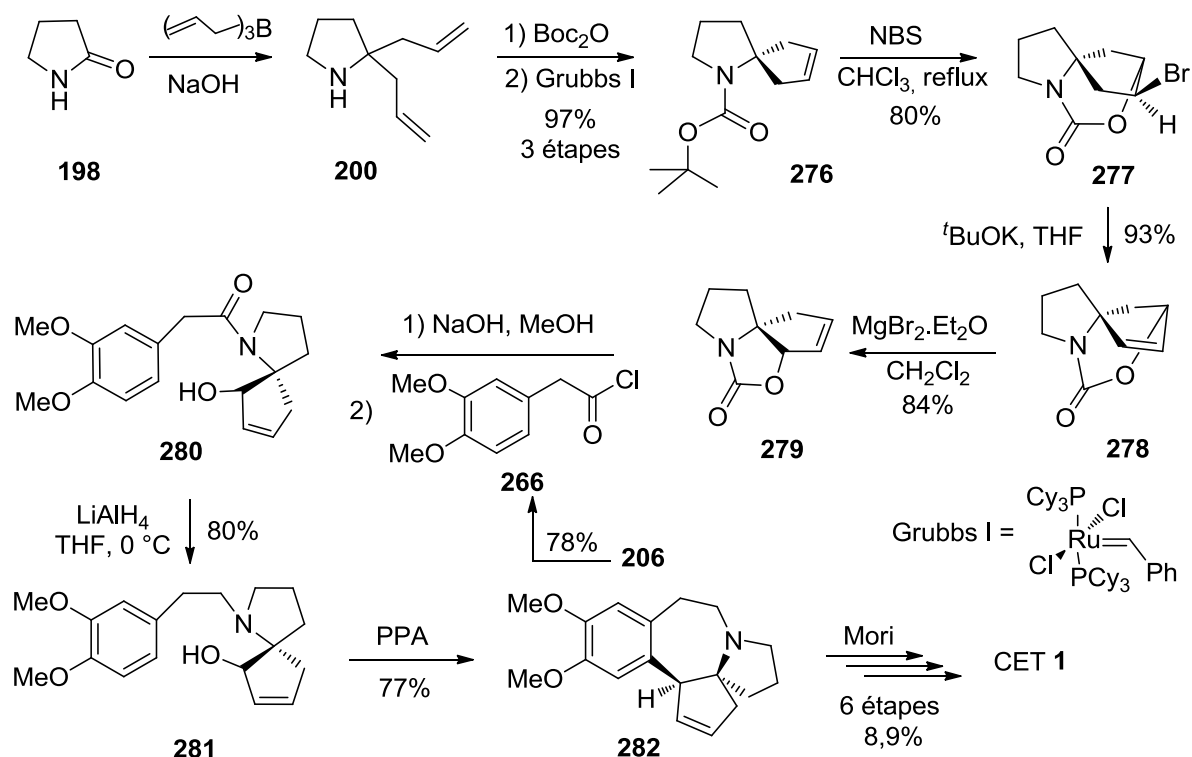
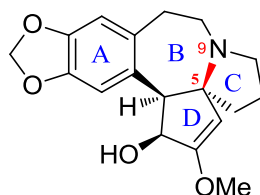


Schéma 25 : Synthèse de Bubnov

3) Synthèses utilisant la déconnexion N₉-C₅ dans la formation du cycle B



a) Synthèse de Fuchs

En 1988, Fuchs propose une synthèse de la céphalotaxine **1** dont l'étape clé est une réaction de type hétéro-Diels Alder sur le composé acylnitroso **289** permettant de former le

cycle B et un précurseur à six chaînons du cycle C.¹⁸⁹ L'orthoester **284** est préparé en 5 étapes avec un rendement de 41%, à partir de l'alcool pipéronylique **283** (Schéma 26).

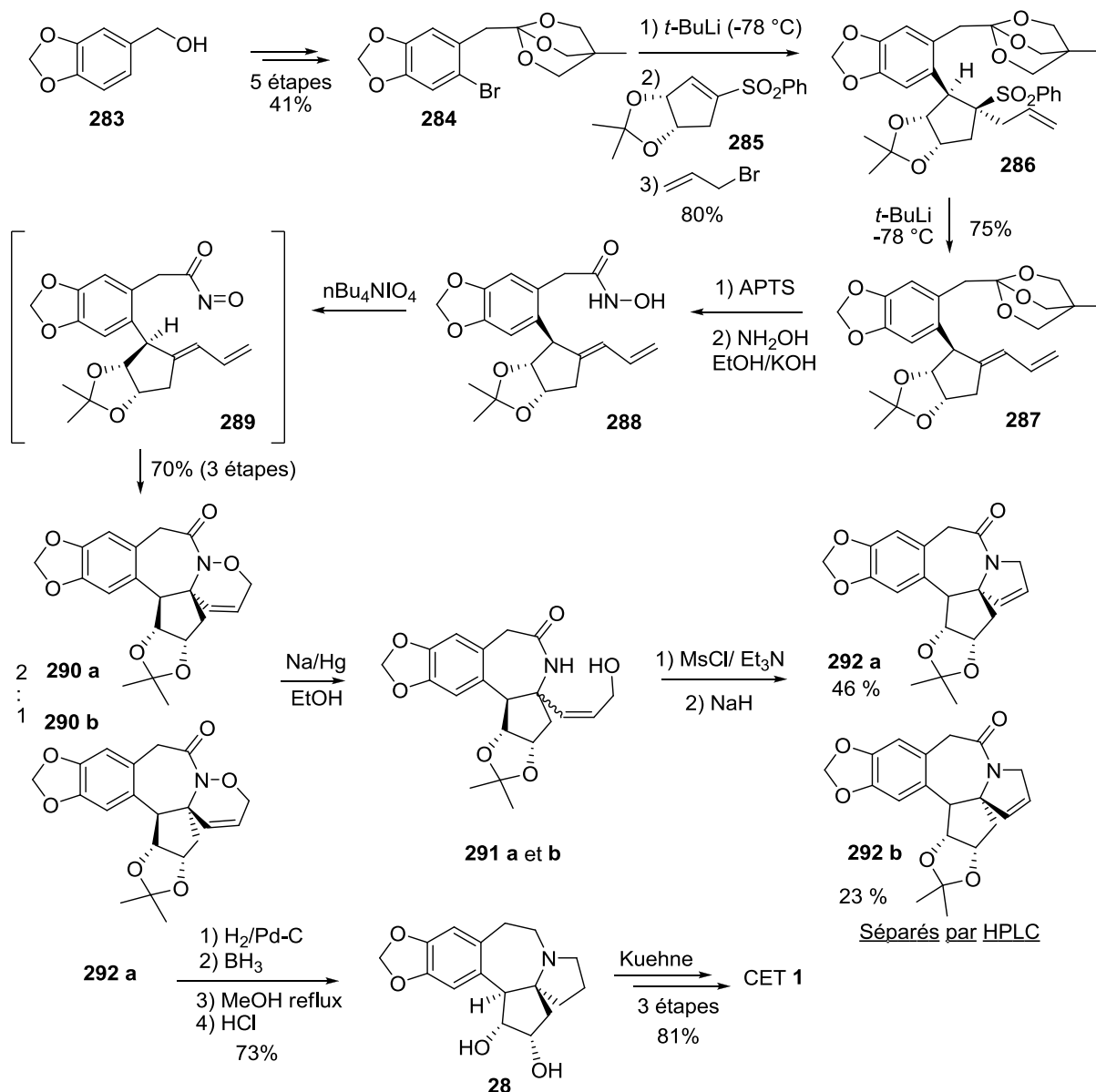


Schéma 26: Synthèse de Fuchs

L'anion issu de l'échange halogène-métal par réaction du *tert*-butyllithium sur le composé **284** s'additionne sur la sulfone α,β -insaturée **285** fournissant l'anion en α de la sulfone qui est piégé *in situ* par du bromure d'allyle pour donner le composé **286**. La fonction sulfone est alors éliminée pour conduire au diène **287**. Par traitements successifs par l'APTS puis par l'hydroxylamine, on l'acide hydroxamique **288** est obtenu. L'acyl nitroso **289**, formé par oxydation à l'aide du periodate de tétra-*n*-butyl ammonium, réagit *in-situ* selon une cyclisation de type hétéro Diels-Alder pour donner les deux diastéréoisomères **290 a** et **290**

189 (a) T. P. Burkholder, P. L. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 2341-2342. (b) T. P. Burkholder, P. L. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 9601-9613.

b. Ceux-ci sont engagés conjointement dans la séquence réactionnelle suivante : la liaison N-O est clivée par action de l'amalgame Na/Hg pour donner les dérivés correspondant **291 a** et **291 b** dont l'hydroxyle est ensuite activé en mésylate puis déplacé par l'anion de l'amide formé par déprotonation au NaH. Ceci permet de former le cycle C des composés **292 a** (46%) et **292 b** (23%) qui sont alors séparés par HPLC (Schéma 26).

A partir du composé **292 a** majoritaire, Fuchs procède à une hydrogénation catalytique de la double liaison, puis réduit le lactame par action du borane. Le complexe amine-borane qui en résulte est méthanolysé. Enfin le diol **28**, obtenu par clivage de l'acétonide en présence d'acide chlorhydrique dilué, est converti en céphalotaxine **1** en trois étapes en suivant la méthode utilisée par Kuehne,¹⁷⁷ complétant une synthèse en 22 étapes et une séparation HPLC avec 4,6% de rendement global.

a) Synthèse de Mariano

En 1994, Mariano publie une synthèse de type biomimétique dans laquelle les cycles B et C sont formés dans la même étape à partir d'un précurseur macrocyclique à 10 chaînons par une réaction de cyclisation transannulaire (**305** → **35**, Schéma 27).¹⁹⁰ Cette approche s'inspire de la réaction de cyclisation intramoléculaire conduisant au squelette tétracyclique de la céphalotaxine dans la voie biosynthétique proposée par Powell (*cf.* **82** → **84** Schéma 4, p 40).⁵⁶

A partir du pipéronal **171**, Mariano accède à l'iodopipéronyléthanol **247** en 6 étapes en reprenant la séquence réactionnelle utilisée par Weinreb¹⁵⁹ et Semmelhack.¹⁶⁰ Après protection de la fonction hydroxyle de **247**, l'aldéhyde **293** est formé par échange iode-lithium suivi d'un piégeage de l'anion par la *N*-formyl-pipéridine. La condensation de l'éther d'énol silylé cyclobuténique **294** avec l'aldéhyde **293** fournit la cyclopentanedione **296** qui conduit à l'éther d'énol cyclique **298** *via* les intermédiaires **296** et **297**. Cet éther d'énol est ouvert par l'addition du réactif de Grignard **299** et la fonction hydroxyle libérée est mésylée pour donner le composé **300**.

Après libération de l'aldéhyde en milieu acide, une réaction d'amination réductrice menée avec la benzylamine en présence de cyanoborohydrure de sodium fournit le composé **301** qui possède les cycles A et D ainsi que tous les atomes nécessaires à la formation du macrocycle précurseur des cycles B et C. En présence de base de Hünig, l'amine secondaire déplace le mésylate pour refermer le macrocycle, puis l'amine est débenzylée par

190 (a) X. Lin, R. W. Kavash, P. S. Mariano, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 9791-9792 (b) X. Lin, R. W. Kavash, P. S. Mariano, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 7335-7347.

hydrogénéolyse (**301** → **302**). Le composé macrocyclique **302** est en équilibre avec la forme cyclisée **303** mais cet équilibre est fortement déplacé vers **302**, ce qui ne permet pas un accès direct à la céphalotaxine *via* le composé **303**.

Afin de favoriser la cyclisation transannulaire, Mariano effectue une oxydation poussée du cycle D, nécessitant 3 étapes. Après protection de l'amine secondaire sous forme de *tert*-butoxycarbonate, l'énolate formé par action de la LDA est oxydé par l'oxaziridine dérivée de l'acide (-) camphorsulfonique (-)-(CSO) pour fournir l' α -hydroxycétone **304** qui alors est oxydé en dione **305**. La libération de l'amine secondaire entraîne alors une cyclisation spontanée en desméthylcéphalotaxinone **35**. Celle-ci est alors convertie en céphalotaxine **1** en 2 étapes selon le procédé mis au point par Weinreb, achevant ainsi une synthèse en 23 étapes avec un rendement global de 1%. (Schéma 27).

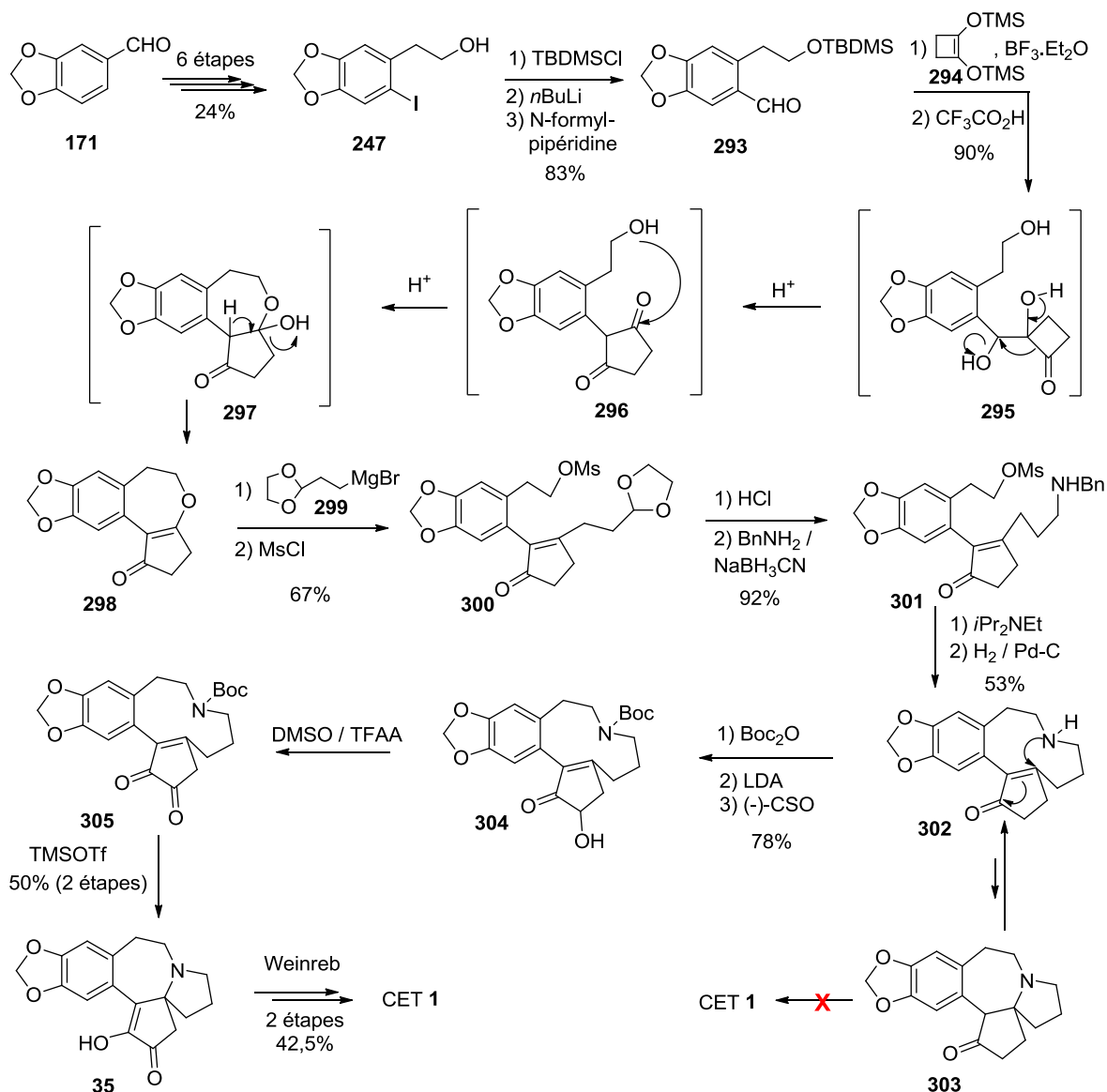


Schéma 27: Synthèse de Mariano

b) Synthèse de Li par cyclisation d'oxy-Nazarov réductrice

La nouvelle stratégie de synthèse de la céphalotaxine **1** racémique développée par Li et collaborateurs en 2011 est basée sur une étape clé de cyclisation réductrice d'oxy-Nazarov (RON, une électrocyclisation unique d'une espèce cationique oxopentadiényle conduisant à des dérivés de cyclopenténone) effectuée sur une dioxolane macrocyclique **310** (Schéma 28).¹⁹¹

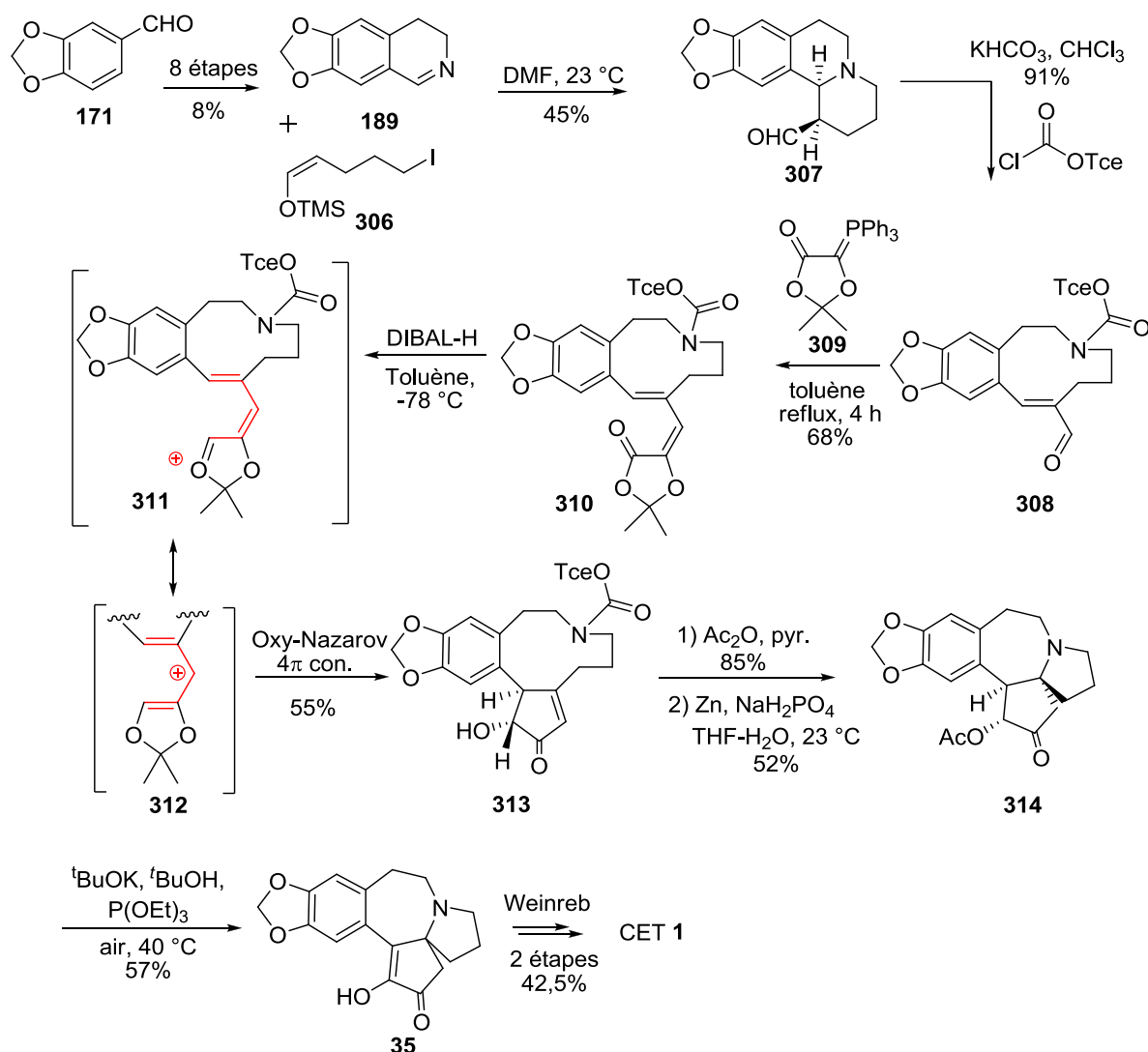


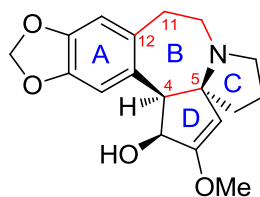
Schéma 28 : Synthèse de Li

Le précurseur macrocyclique à dix chaînons **310** a été synthétisé par condensation de la norhydrastinine **189** avec l'éther d'énol silylé **306** pour donner le composé **307** avec un rendement de 45%, qui par réaction avec le chloroformate de 2,2,2-trichloroéthyle (TrocCl) en présence de KHCO₃ fournit l'aldéhyde macrocyclique **308** avec 91% de rendement,

191 W-D. Z. Li, W-G. Duo, C-H. Zhuang, *Org. Lett.*, **2011**, 13, 3538-3541.

transformé par oléfination de Wittig avec le triphénylphosphoranylidène dioxolanone **309** dans le toluène à reflux en dioxolanone (*E*)-**310** avec un rendement de 68% après séparation de l'isomère *Z* (14%). La réduction de lactone en présence de DIBAL-H entraîne la formation de l'oxonium intermédiaire activé **311** dont le cation tautomère oxopentadiényle subit une électrocyclisation 4π conrotatoire conduisant la cyclopenténone **313** avec un rendement de 55%. Après l'acétylation de l'alcool puis le clivage du groupe *N*-Troc par le zinc, la formation spontanée du squelette pentacyclique de la CET **1** par réaction de Michael intramoléculaire conduit à **314** avec 52% de rendement. Enfin, l'hydrolyse de l'acétate avec l'oxydation spontanée de l'alcoolate de potassium à l'air fournit la desméthylcéphalotaxinone **35** dont la conversion en CET **1** en deux étapes et 42,5% de rendement a été décrite précédemment par Weinreb,¹⁶² ce qui permet d'accéder à la céphalotaxine en 18 étapes et 0,13% de rendement global.

4) Autres stratégies de formation du cycle B



a) Synthèse d'Ikeda

En 1990, Ikeda publie une synthèse totale de la céphalotaxine **1** en proposant une déconnexion originale (C₁₁-C₁₂) pour la formation du cycle B.^{192c} Celui-ci est formé par une réaction de Pummerer du sulfoxyde **321** pour donner le composé **322** ayant le squelette complet de la céphalotaxine **1** (Schéma 29). A partir du pipéronal **171**, Ikeda accède au nitrostyrène **217** en apportant les atomes C₄ et C₅ par réaction de Henry sur le pipéronal **171**. Le cycle D est ensuite formé par une cycloaddition [3+2] avec l'acétate de 2-[(triméthylsilyl)méthyl-2-propén-1-yl] **315** selon la méthode décrite par Trost.¹⁹³ L'adduit **316** ainsi obtenu sous la forme de deux diastéréoisomères (*cis/trans* 2:8) est condensé sur l'acrylate de méthyle pour conduire au nitro-ester **317** sous la forme d'un seul diastéréoisomère. Le cycle C est formé après réduction du groupement nitro et cyclisation spontanée pour donner le lactame spiranique **318**. Le clivage oxydatif du motif éthylénique exocyclique suivi de la protection de la fonction cétone résultante aboutit à l'acétal **319**.

192 (a) H. Ishibashi, M. Okano, H. Tamaki, K. Maruyama, T. Yakura, M. Ikeda, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1990**, 1436-143. (b) M. Ikeda, M. Okano, K. Kosaka, M. Kido, H. Ishibashi, *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 276-281. (b) Référence 186.

193 B. M. Trost, P. Seoane, S. Mignani, M. Acemoglu, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 7487-7500.

L'action du Red-Al[®] fournit ensuite une amine secondaire qui est condensée sur l'acide méthylsulfénylacétique. L'hydrolyse de l'acétal régénère la fonction cétone du composé **320**. Après réduction par NaBH₄ et estérification de la fonction hydroxyle, l'oxydation au périodate de sodium conduit au sulfoxyde **321**. La réaction de Pummerer menée sur celui-ci en présence d'anhydride trifluoroacétique (TFAA) permet de fermer le cycle B du composé **322**. Ikeda accède enfin en trois étapes (désulfuration, saponification et oxydation de Swern) au composé **215**, qui est le synthon précédemment utilisé par Hanaoka,¹⁷⁵ dont il utilise la séquence finale pour obtenir la CET **1**, en une séquence linéaire de 19 étapes avec 18% de rendement.

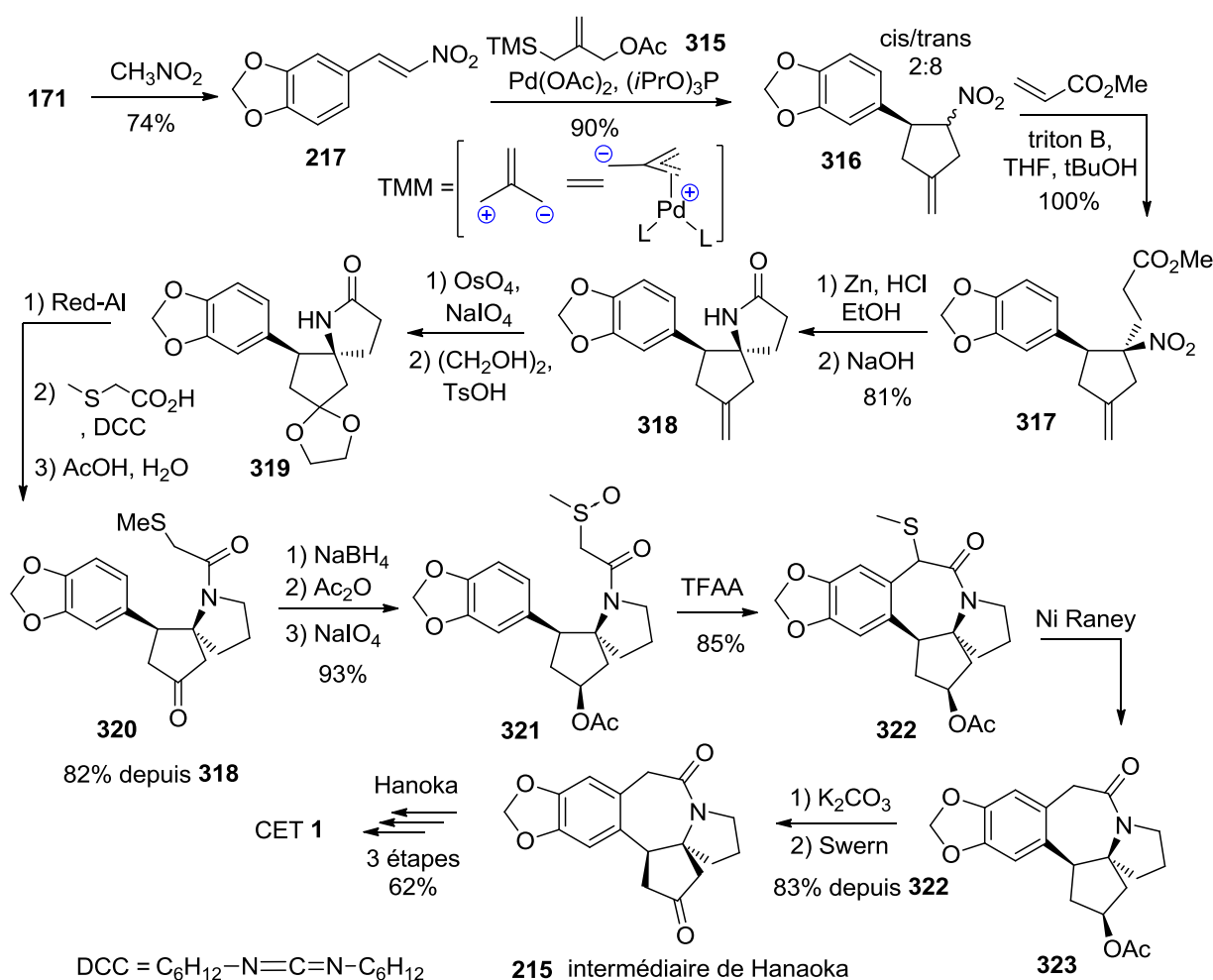


Schéma 29 : Synthèse d'Ikeda

En utilisant un ligand phosphoramidite chiral, Trost a réalisé en 2012 la cycloaddition [3+2] énantiosélective entre le nitrostyrène **217** et le TMM **315**, fournissant le cyclopentène (+)-**316** précurseur de la (+)-CET **1** avec 80% de rendement et un ee de 91%.^{161c}

b) Synthèse formelle de Nagasaka

En 2002, Nagasaka¹⁹⁴ décrit une synthèse formelle de la céphalotaxine **1** en proposant une nouvelle voie d'accès au cétolactame **339** décrit par Hanaoka en 1988.¹⁷⁵

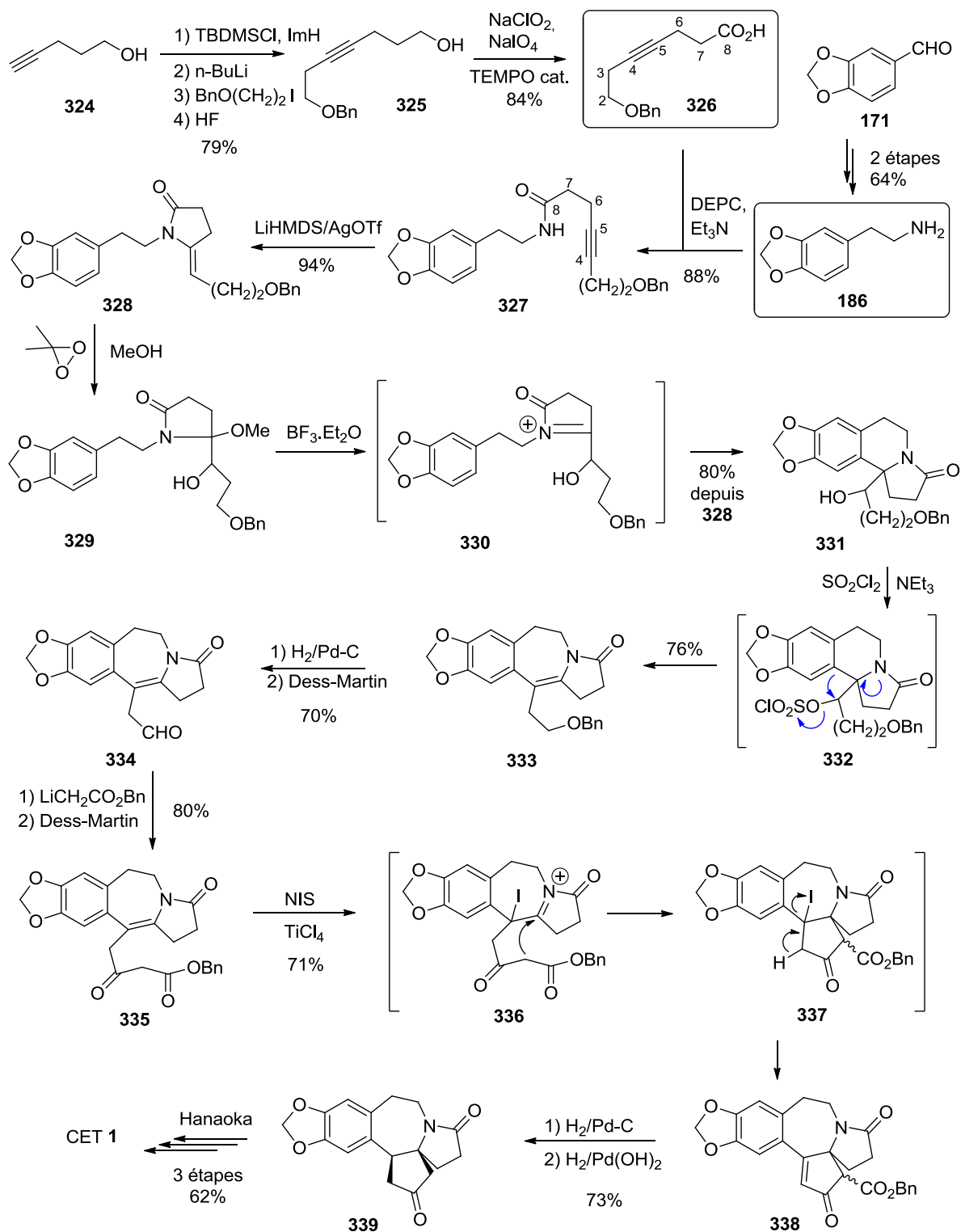


Schéma 30 : Synthèse formelle de Nagasaka

Le cycle B est formé par expansion de cycle à partir d'un précurseur à six chaînons **331** provenant d'une réaction de cyclisation impliquant un intermédiaire de type *N*-acyliminium (**329** → **331**, Schéma 30).

Le composé **326**, préparé en 5 étapes à partir du 4-pentynol **324**, possède les atomes C₅, C₆, C₇ et C₈ nécessaires à la formation du cycle C ainsi que les futurs atomes C₂, C₃ et C₄ du squelette de la CET **1**. Il est ensuite couplé à l'amine **186** qui est accessible en 2 étapes à partir du pipéronal **171** pour donner l'amide **327**. Ce dernier, traité par une base forte, engendre le cycle C par *N*-hétérocyclisation intramoléculaire. Le composé **328** ainsi formé réagit avec le diméthyldioxirane dans le méthanol pour donner l'intermédiaire instable **329** qui est immédiatement traité par du BF₃.Et₂O engendrant l'acyliminium **330** qui se cyclise en **331**. Après la réaction d'expansion de cycle par réarrangement de Stevens fournissant le cycle B (**331** → **333**), l'aldéhyde **334** est obtenu par débenzylation suivie d'une oxydation de Dess-Martin. L'atome de carbone manquant (C₁) est apporté sous forme de l'organolithien dérivé de l'acétate de benzyle. L'aldol intermédiaire est oxydé en β-cétoester **335**. Le cycle D est ensuite formé par cyclisation de l'acyliminium **336** qui, par élimination d'acide iodhydrique fournit **338**. Le composé **339**, précédemment décrit par Hanaoka, est alors obtenu par débenzoylation et hydrogénation de la double liaison endocyclique. Nagasaka propose ainsi une synthèse formelle de la CET **1** en 19 étapes et 5,6% de rendement global.

c) Synthèses de Li par réarrangement réductif

En 2003, Li publie une synthèse totale de la céphalotaxine **1** dans laquelle les cycles B et C sont formés simultanément lors d'un réarrangement réductif de Clemmensen-Clemo-Prelog-Léonard d'une énone porteuse d'un atome d'azote en position spiranique (**344** → **345**, Schéma31).¹⁹⁵

A partir de l'amine **186**, issue du pipéronal **171**, Li accède au diester **340** par réaction de Bischler-Napieralski suivie d'une alkylation par le 4-bromobutanoate d'éthyle. Après quaternarisation de l'atome d'azote par un motif allylique et réarrangement sigmatropique, le composé **343** est obtenu par réaction de Dieckmann du diester **342** suivie d'une décarboxylation. Une oxydation de Wacker suivie d'une réaction d'aldolisation-crotonisation permet la formation de l'énone figurant le cycle D. Les cycles B et C du squelette tétracyclique de la céphalotaxine **1** sont alors formés lors du réarrangement en milieu acide du composé **343** via l'aziridinium **344**. L'oxydation de **346** par de l'iode hypervalent fournit l'acétal **347** qui est converti en 3-épi-déméthylcéphalotaxine en milieu acide, puis en

¹⁹⁵ W.-D. Li, Y. Wang, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 2931-2934.

déméthylcéphalotaxinone **35** par déshydrogénation auto-oxydante en présence de *tert*-butylate de potassium et d'air,¹⁹⁶ qui peut être transformée en céphalotaxine **1** selon Weinreb,¹⁶² pour achever une synthèse en 17 étapes et 2,0% de rendement global.

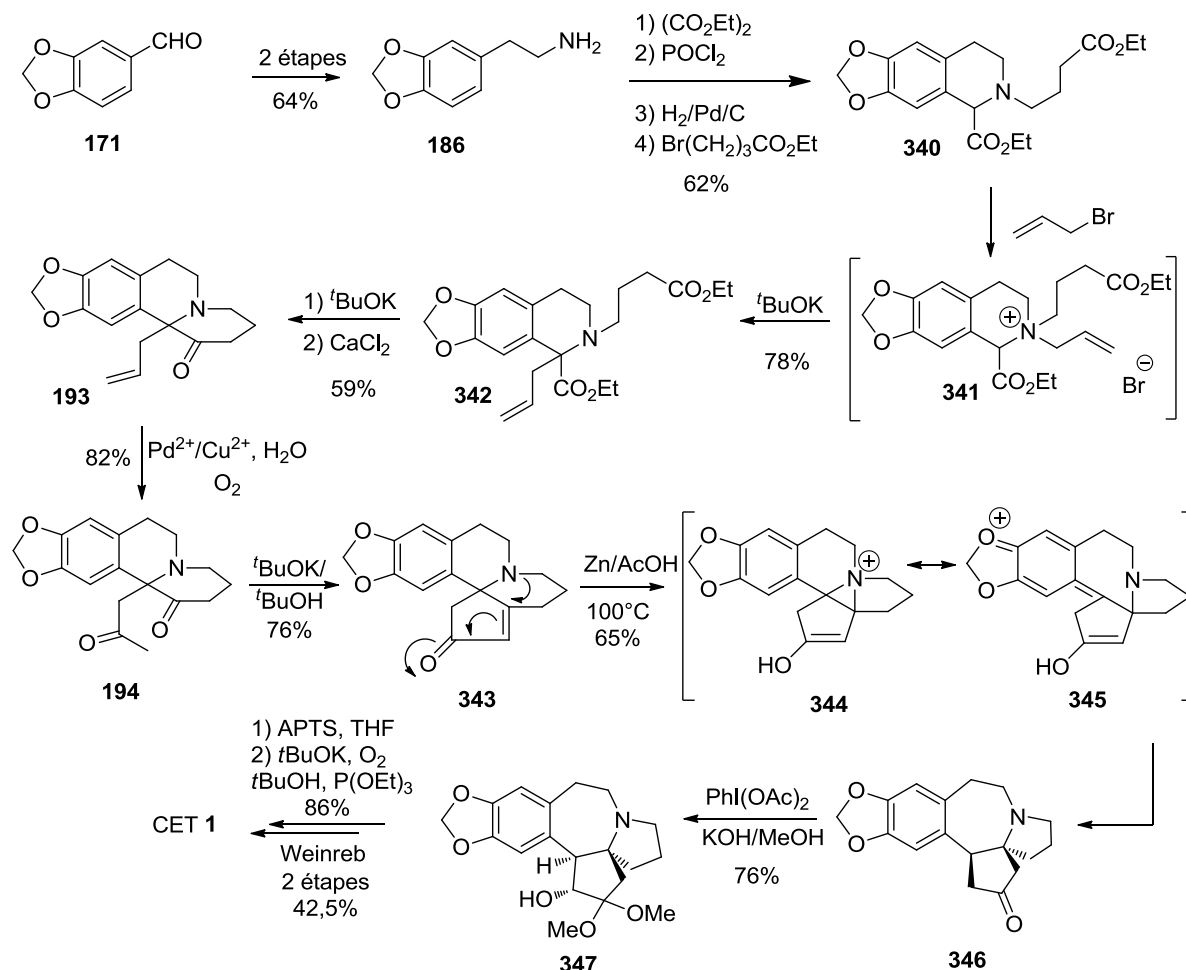


Schéma 31 : Synthèse de Li (2003)

Par la suite, en 2005, Li et collaborateurs ont décrit une construction originale de l'intermédiaire amino-énone **343** (Schéma 32)¹⁹⁷ dont la synthèse commence par condensation de Bischler-Napieralski de la β -(3,4-méthylènedioxy)phényléthylamine **186** avec la δ -valérolactone **348** catalysée par l'oxychlorure de phosphore dans toluène à reflux pour donner le perchlorate d'iminium **349** avec 74% de rendement. Celui-ci traité par une solution aqueuse de soude à 10% à température ambiante donne l'énamine labile **350** qui est alkylée avec l' α -bromoacétone pour donner l'énamine endocyclique **351** et le bromure d'iminium **352** correspondant avec 20% et 50% de rendement, respectivement. Ce brut

196 G. Büchi, P. Kulsa, K. Ogasawara, R. L. Rosati, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, 92, 999.

197 W.-D. Z. Li, B.-C. Ma, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 3277-3280.

d'alkylation est converti par traitement avec l'acide perchlorique à 70% dans méthanol en composé **353** avec 65% de rendement, puis est exposé en milieu basique pour conduire à la cétone pentacyclique **354** accompagnée de la dione **194** avec un rendement de 15% et 25% respectivement, dont la cyclisation par aldolisation crotonisation intramoléculaire par le *t*-ButOK conduit à l'énone **343**. La cyclopentanone **354** est oxydée par voie radicalaire pour fournir l'énone **343** obtenue avec un rendement combiné de 27,5% à partir du perchlorate **353**, complétant une synthèse formelle en 13 étapes de la (±)-CET **1** avec un rendement global de 2,74%.

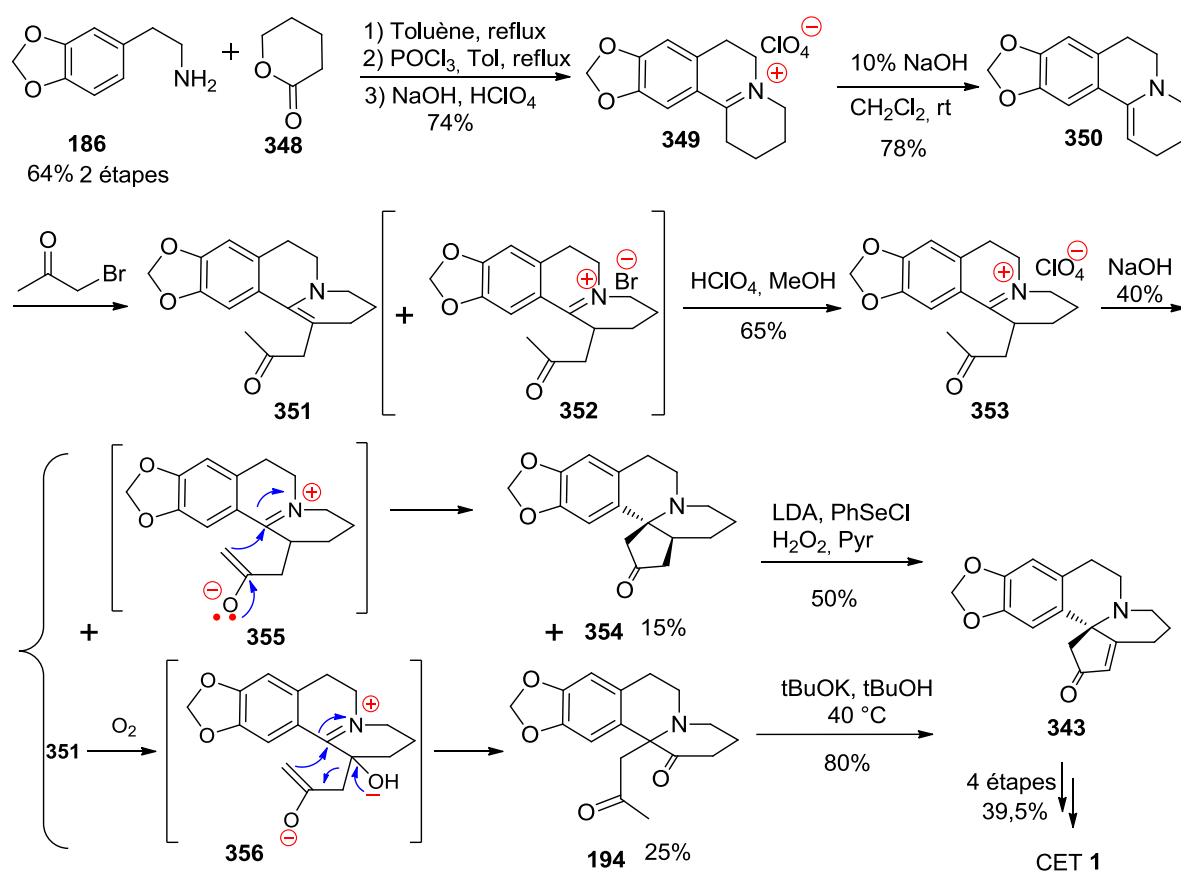


Schéma 32: Synthèse de l'amino-énone **343** de Li (2005)

Une cyclisation de type Mannich de perchlorate d'iminium **353** via l'énolate d'iminium **355** promu en milieu basique peut expliquer la formation de la cétone pentacyclique **354**. Un mécanisme possible pour la formation du composé **194** à partir de perchlorate d'iminium **353** en condition alcaline implique l'énamine **351** qui subit une oxydation à l'air et un réarrangement en dione **194** par une transposition de liaison C-C intramoléculaire via l'intermédiaire **351**.

d) Synthèse de Tu et Zhang

En 2009, Tu et Zhang ont développé une synthèse de l'intermédiaire isoquinoline **194** de Li¹⁹⁷ basée sur une réaction clé de Schmidt intramoléculaire d'une azido-dione achirale **366** et un réarrangement sigmatropique [2,3] pour construire le centre quaternaire C₅ (Schéma 33).¹⁹⁸ La synthèse commence par la réduction de l'acide homopipéronylique **172** par LiAlH₄ pour donner l'alcool **357** qui est bromé régiosélectivement en composé **358** dont la fonction alcool est convertie en chloré conduisant au composé **359** avec un rendement de 72,2%, soit 36,1% en 8 étapes à partir du pipéronal **171**.¹⁹⁹

Par couplage de Kumada-Suzuki de l'acide arylboronique préparé à partir du bromé **360** avec la 2-iodocyclopenténone²⁰⁰, l'énone **361** est obtenue avec 81% de rendement. Une addition de Grignard en 1,2 sur l'énone **361** fournit l'alcool **362** avec un rendement de 94%, puis la substitution du chlore par un azidure suivie de l'époxydation et de la silylation de l'alcool avec TMSCl conduit à l'azoture d'époxy siloxy **364** avec un rendement de 78%, soit 63% de rendement à partir de l'énone **361**. Le traitement de l'époxyde **364** par TiCl₄ à -78 °C donne la β-hydroxycétone **365** qui est oxydée en dione **366** par le réactif de Dess-Martin avec 70% de rendement sur deux étapes dont la réaction clé de Schmidt intramoléculaire par TiCl₄ à 0 °C fournit le composé **367** avec 75% de rendement. Une oxydation de Wacker fournit la méthyl cétone **368** avec un rendement quantitatif dont la fonction lactame est sélectivement réduite en amine par traitement avec le réactif de Lawesson puis réduction du thiolactam en utilisant le nickel de Raney W-2 donnant le composé **194** avec un rendement de 85% en deux étapes. Pour compléter la synthèse, une cyclisation aldolique aisée de la dione **194** a donné le tétracycle clé **343** avec un rendement de 80%. L'intermédiaire **343** ayant été utilisé pour la synthèse totale de la céphalotaxine par Li,¹⁹⁵ par conséquent, Tu et Zhang proposent une synthèse formelle de la céphalotaxine **1** racémique en 25 étapes avec un rendement total de 0,8%.

198 Y.-M. Zhao, P. Gu, H.-J. Zhang, Q.-W. Zhang, C.-A. Fan, Y.-Q. Tu, F.-M. Zhang, *J. Org. Chem.*, **2009**, 74, 3211–3213.

199 Y.-M. Zhao, P. Gu, Y.-Q. Tu, H.-J. Zhang, Q.-W. Zhang, C.-A. Fan, *J. Org. Chem.*, **2010**, 75, 5289–5295.

200 M. E. Krafft, J. W. Cran, *Synlett*, **2005**, 1263.

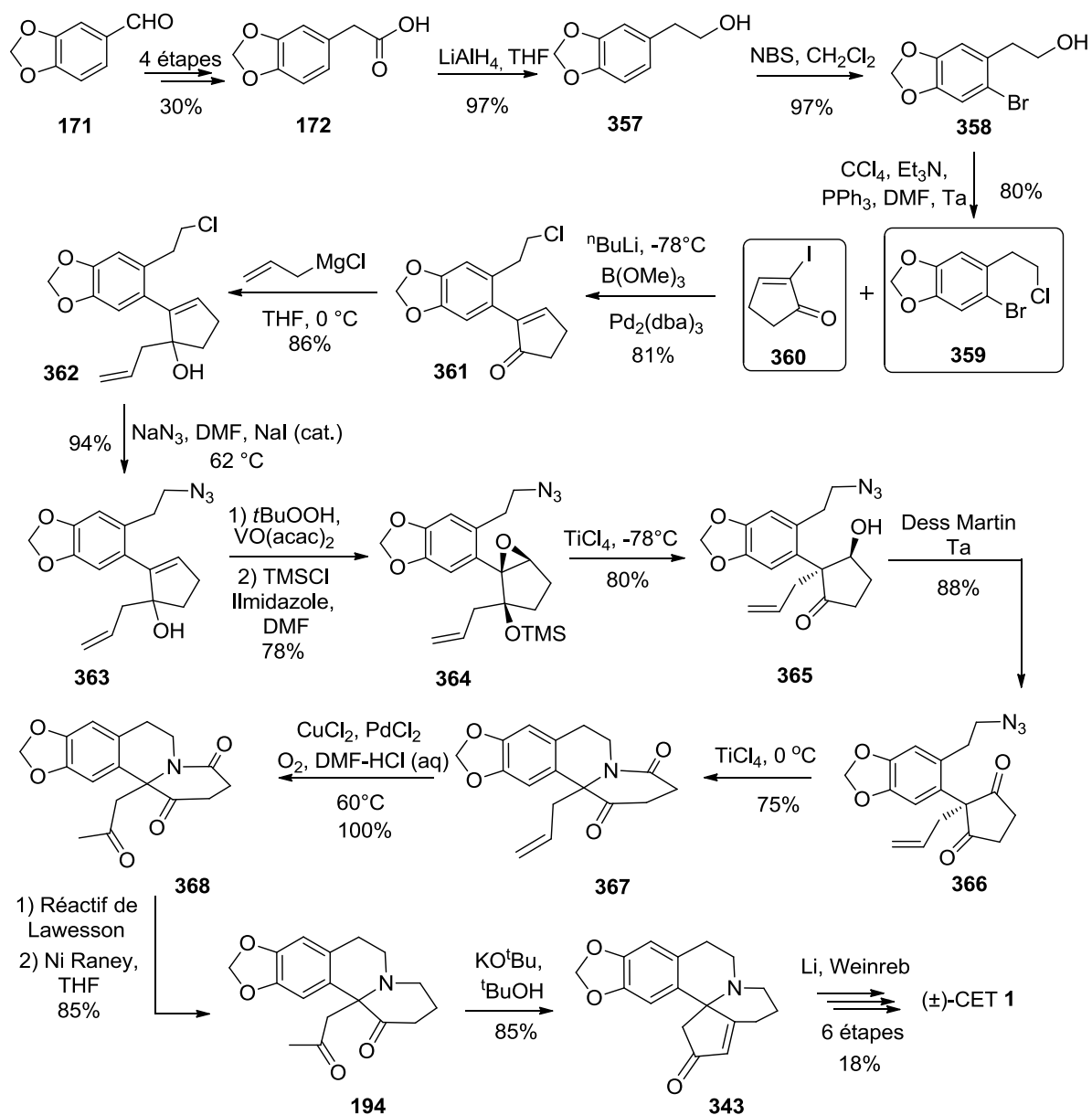
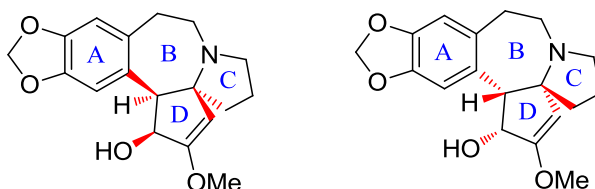


Schéma 33 : Synthèse de Tu et Zhang

5) Synthèses asymétriques de la céphalotaxine



Les études de relation structure-activité ont montré l'importance de la configuration absolue de la céphalotaxine dans les propriétés biologiques de ses principaux esters.^{3a} Le contrôle relatif et absolu des trois centres asymétriques de la céphalotaxine lors d'une

synthèse totale est donc un enjeu majeur qui, au milieu des années 90, n'avait toujours pas été relevé. La seule méthode pour obtenir la céphalotaxine synthétique optiquement active consistait alors en un dédoublement par un agent chiral en fin de synthèse suivi d'une séparation des diastéréoisomères.

On remarque que, dans la plupart des synthèses racémiques décrites précédemment, la céphalotaxine racémique est obtenue sous la forme d'un seul diastéréoisomère, sans qu'il soit nécessaire, à quelques exceptions près (*cf.* synthèse de Fuchs¹⁸⁹ Schéma 26, p 101) d'effectuer une séparation. Cela signifie que, selon la stratégie de synthèse employée, les trois centres asymétriques contigus sont susceptibles de se contrôler mutuellement. Ce phénomène est particulièrement net dans les stratégies employant la déconnexion C₄-C₅ pour la formation du cycle B. Lors de l'étape de cyclisation, l'arrangement thermodynamique le plus stable correspond à la configuration relative en C₄-C₅ qui est celle de la céphalotaxine naturelle (Schéma 34).

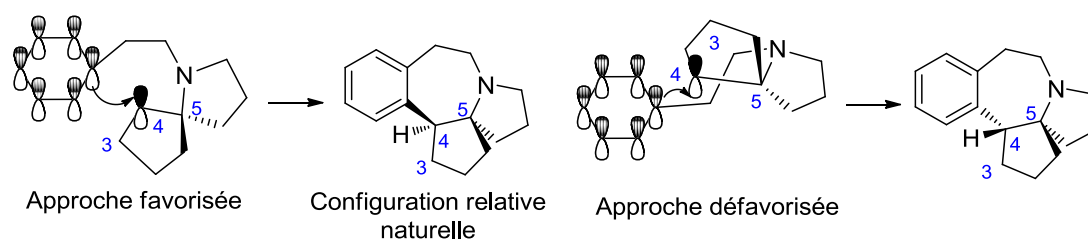


Schéma 34

D'autre part, il est établi, depuis les travaux de Weinreb,¹⁶² que la réduction de la céphalotaxinone **22** en céphalotaxine **1** est totalement stéréosélective. L'hydrure attaque le carbonyle du côté le moins encombré conduisant à la configuration relative naturelle des centres C₃ et C₄. (Schéma 35).

En résumé, il est possible de contrôler successivement le centre C₄ *via* le centre C₅ puis le centre C₃ *via* le centre C₄, ce qui signifie qu'une synthèse énantiosélective de la céphalotaxine peut être menée à partir du seul contrôle du centre C₅ tétrasubstitué.

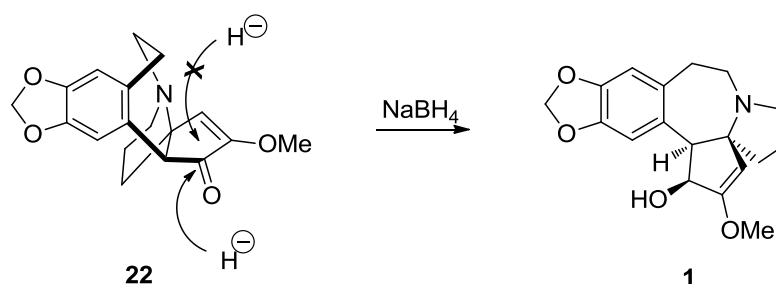


Schéma 35 : Attaque stéréosélective d'un hydrure sur la céphalotaxinone 22

C'est pour cette raison que 13 des 16 synthèses asymétriques publiées depuis 1995 se basent sur le contrôle du centre spiranique C₅ suivi d'une cyclisation stéréosélective formant le cycle B et contrôlant le centre C₄, la synthèse étant achevée par le contrôle du centre C₃ lors de l'étape de réduction.

Nous avons choisi de présenter d'abord les accès à la CET par dédoublement (Weinreb, Zhong et El Bialy), puis les approches qui effectuent un couplage avec l'unité aromatique A avant d'élaborer le système azaspiranique CD et relèvent de la stratégie du contrôle du centre C₅ (Mori, Ikeda, Hayes, Tietze) ou non (Gin, Ishibashi) suivies par les stratégies qui élaborent une unité CD avant le couplage à l'unité aromatique A (Nagasaka, Royer, Dumas et d'Angelo, Mariano, Stoltz, Hayes, Tu et Renaud), la seule qui ait requis un dédoublement après couplage étant celle de Stoltz .

a) Dédoublement de la céphalotaxine selon Weinreb

D'un point de vue industriel, le groupe Merck a repris la synthèse de Weinreb en série racémique en améliorant le rendement (11,7% en supprimant certaines étapes de purification). La céphalotaxine optiquement active, dans sa configuration naturelle, a été obtenue par résolution de la céphalotaxine racémique par l'acide *L*-(+)-tartrique avec 45% de rendement, ce qui a permis d'obtenir à grande échelle la (-)-CET avec 5,3% de rendement global et 98,5% d'ee, et la conduite des essais cliniques aux Etats-Unis par la société Merck avec l'HHT en dérivant (Schéma 36).¹⁶⁵

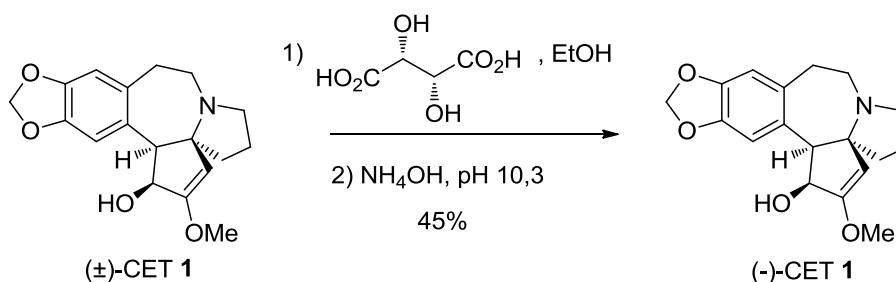


Schéma 36 : Dédoublement de Merck-Weinreb

b) Synthèse et dédoublement de Zhong

La céphalotaxine racémique a été synthétisée en 16 étapes à partir de l'acide *L*-glutamique et du pipéronal **171**. La céphalotaxinone racémique **22** a été séparée en énantiomères par l'acide *L*-(+)-tartrique, permettant d'accéder à la (-)-CET **1** après réduction au borohydrure de sodium (Schéma 37).^{162a}

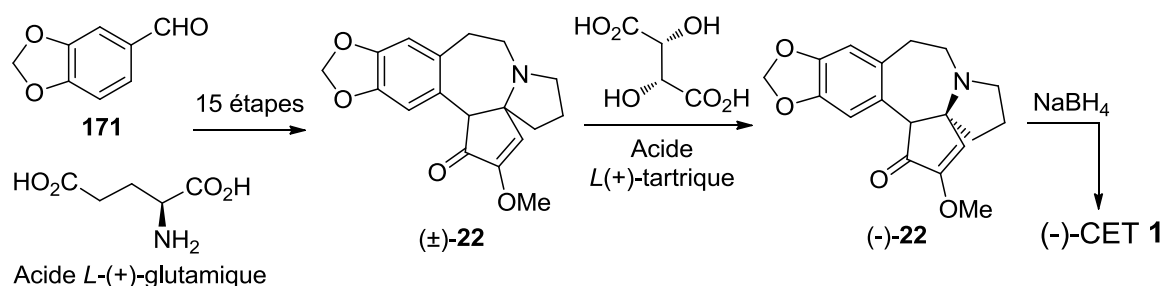


Schéma 37 : Synthèse et dédoublement de Zhong

c) Synthèse et dédoublement de El Bialy

El Bialy a proposé le dédoublement avec l'acide *L*-malique d'un analogue **318b** de l'intermédiaire d'Ikeda **318a**²⁰¹ pour accéder à la (-)-CET **1** en 18 étapes dont un dédoublement et 1,5% de rendement global à partir du pipéronal **171** (Schéma 38).²⁰² La séparation des malates diastéréoisomères conduit à un sel majoritaire conduisant à l'énantiomère (-)-**318b**. Après comparaison des activités optiques, ce sel cristallisé conduirait à la (+)-céphalotaxine. L'utilisation de l'antipode (+)-**318b** obtenu par concentration des eaux mères a fourni l'intermédiaire d'Hanaoka (+)-**215**, qui permet à l'accès à la (-)-CET **1**, avec un excès énantiomérique de 89,3% mesuré par HPLC chirale.

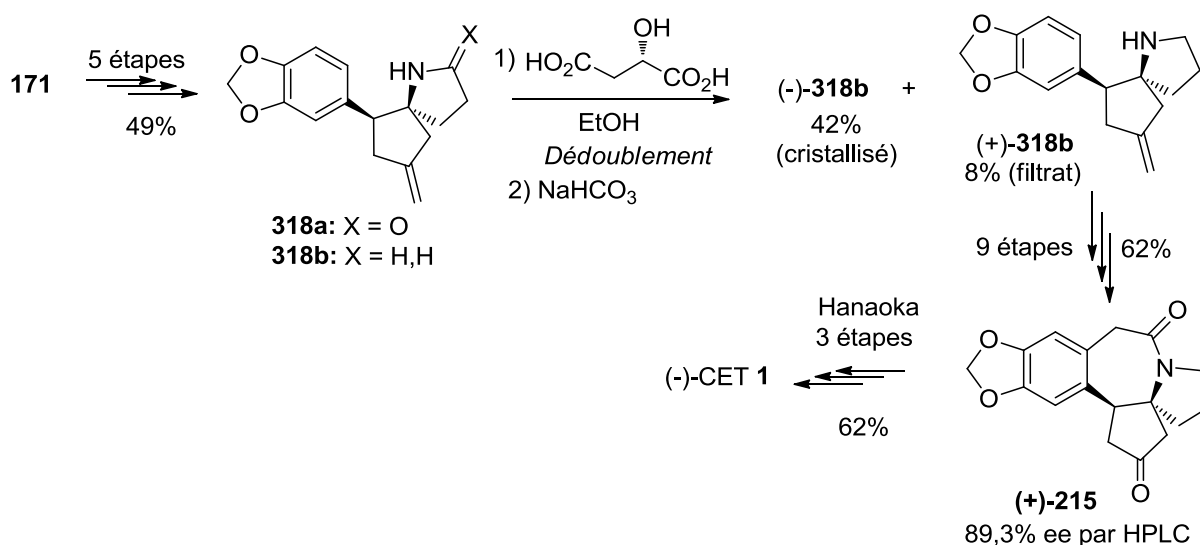


Schéma 38 : Synthèse et dédoublement de El Bialy

Dans sa deuxième synthèse formelle, la formation du cycle B par réaction pallado-catalysée a été mise à profit pour accéder au céto-lactame ABCD **215**, qui est un intermédiaire d'Hanaoka.¹⁷⁵ Le dérivé iodoarylé optiquement actif **369** préparé à partir de la *D*-proline en

201 M. Ikeda, S. A. A. El Bialy, K.-I.Hirose, M. Kotake, T. Sato, S. M. M. Bayomi, I. A. Shehata, A. M. Abdelal, L. M. Gad, T. Yakura, *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 983-987.

202 S. A. A. El Bialy, M. A. Ismail, L. M. Gad and A. M. M. Abdelal, *Med. Chem. Res.*, **2002**, 11, 293-300.

utilisant la méthode de Seebach selon Ikeda,²⁰¹ a été converti en intermédiaire d'Ikeda **215** avec 67% de rendement par réaction de Heck réductrice en présence de Pd(OAc)₂, PPh₃, Et₃N et HCO₂H dans le THF (Schéma 39). La réaction est particulièrement efficace alors que celle effectuée par Ikeda²⁰¹ (Pd(OAc)₂, PBu₃, DPPP, Ag₂CO₃ dans le DMF) conduit au produit de Heck attendu avec seulement 7% de rendement accompagné de 4% de produit de deshalogéantion. Il réalise ainsi une synthèse formelle en 14 étapes et 10,8% de rendement global avec un ee de 89,3% mesuré par HPLC chirale.

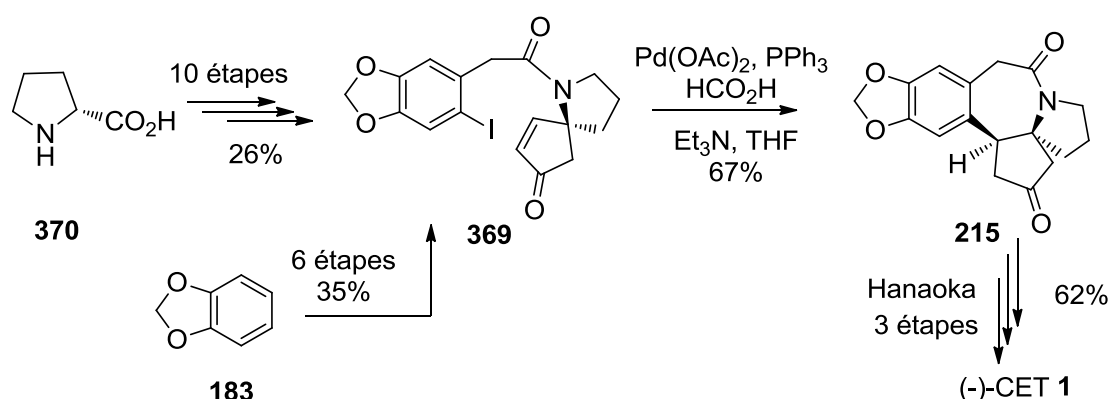


Schéma 39: Synthèse de El Bialy

d) Synthèse énantiosélective de Mori

En 1995, Mori décrit la première synthèse énantiosélective de la (-)-CET **1** naturelle en partant de la (+)-*D* proline (non naturelle) qui apporte le centre C₅ dans la configuration (*R*) désirée (Schéma 40).

Le composé **370**, obtenu à partir de la *D*-proline selon la méthode de Seebach,²⁰³ est alkylé pour donner le dérivé silylé **371**. Celui-ci est converti en iodure vinylique **372**. La pyrrolidine protégée **373**, obtenue en 3 étapes, est couplée avec l'unité aromatique **378** dérivée de l'acide homovératrique **206** pour donner le composé **374**. Après transformation de l'ester méthylique en aldéhyde, le système spiranique est formé par cyclisation *via* un dérivé stannylé (**375** → **376**). Le cycle B est ensuite formé par cyclisation en milieu acide du composé **376**.

Il est à noter que, dans sa stratégie initiale, Mori avait prévu la cyclisation du composé **379** portant le groupement benzodioxole. Cependant, traité par l'acide polyphosphorique, celui-ci ne se cyclise pas, ce résultat est d'autant plus surprenant que Kuehne réalise la cyclisation du composé analogue amide **224** en présence de SnCl₄ (Schéma 41).

203 A. K. Beck, S. Blank, K. Job, D. Seebach, T. Sommerfeld, *Org. Synth.*, **1993**, 62-67.

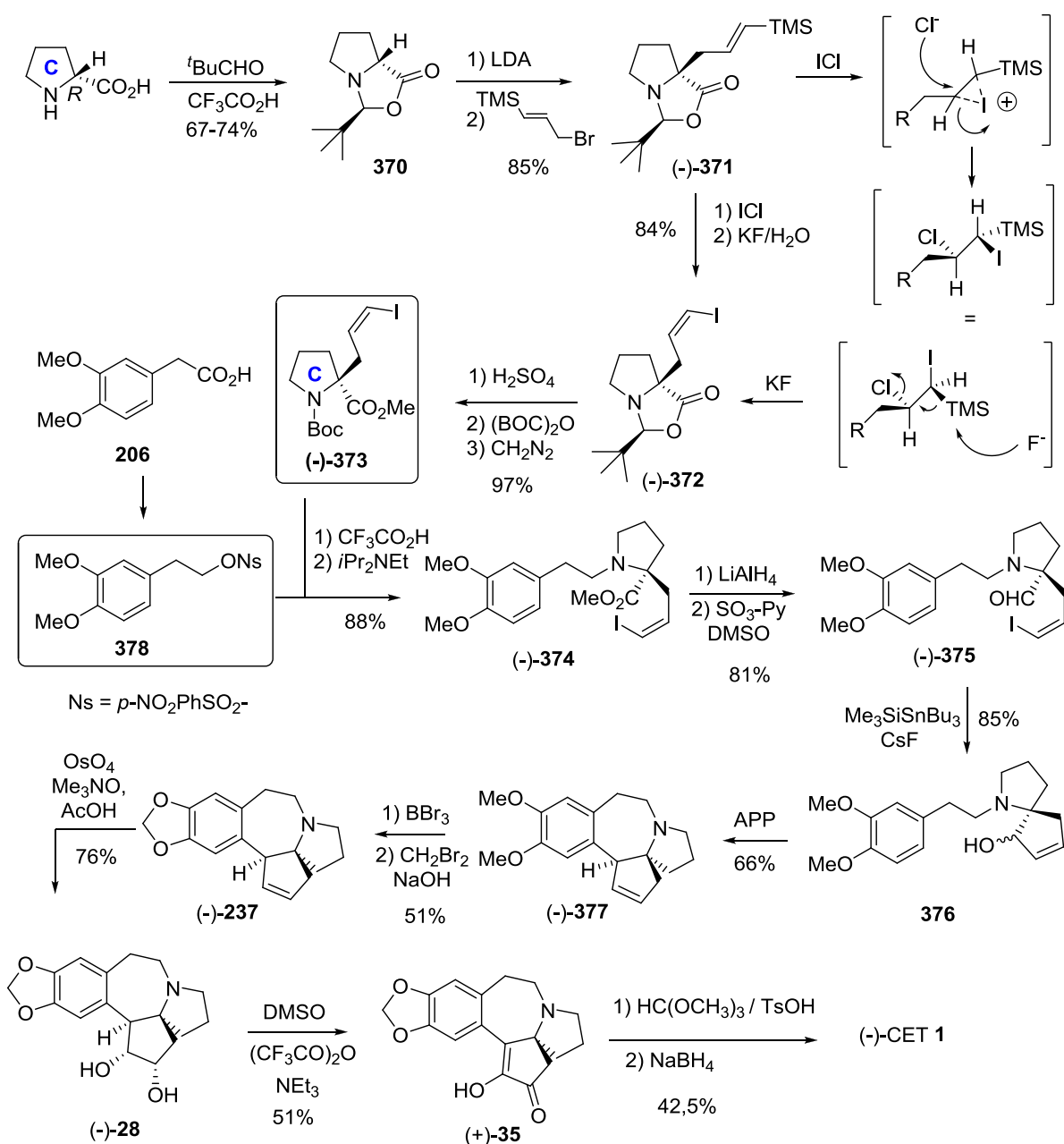


Schéma 40 : Synthèse de Mori

On peut supposer que l'atome d'azote tertiaire du composé **379** se protone dans les conditions acides de cyclisation, ce qui gêne la réaction du noyau aromatique sur le carbocation intermédiaire. Cette protonation n'a sans doute pas lieu dans le cas du lactame **224** utilisé par Kuehne. Pour mener à bien la réaction de cyclisation, Mori doit utiliser l'unité aromatique **376** dérivée de l'acide homovératrique **206** dont le noyau aromatique est plus riche en électron. En effet, il a été montré que, dans le cas d'un noyau aromatique substitué par deux groupements méthoxy, il y a un bon recouvrement entre les orbitales des atomes d'oxygène et le système π aromatique. Ce recouvrement se fait moins bien dans le cas du

groupement méthylènedioxy à cause de la rigidité du cycle dioxole, il en résulte un noyau aromatique moins riche en électron.²⁰⁴

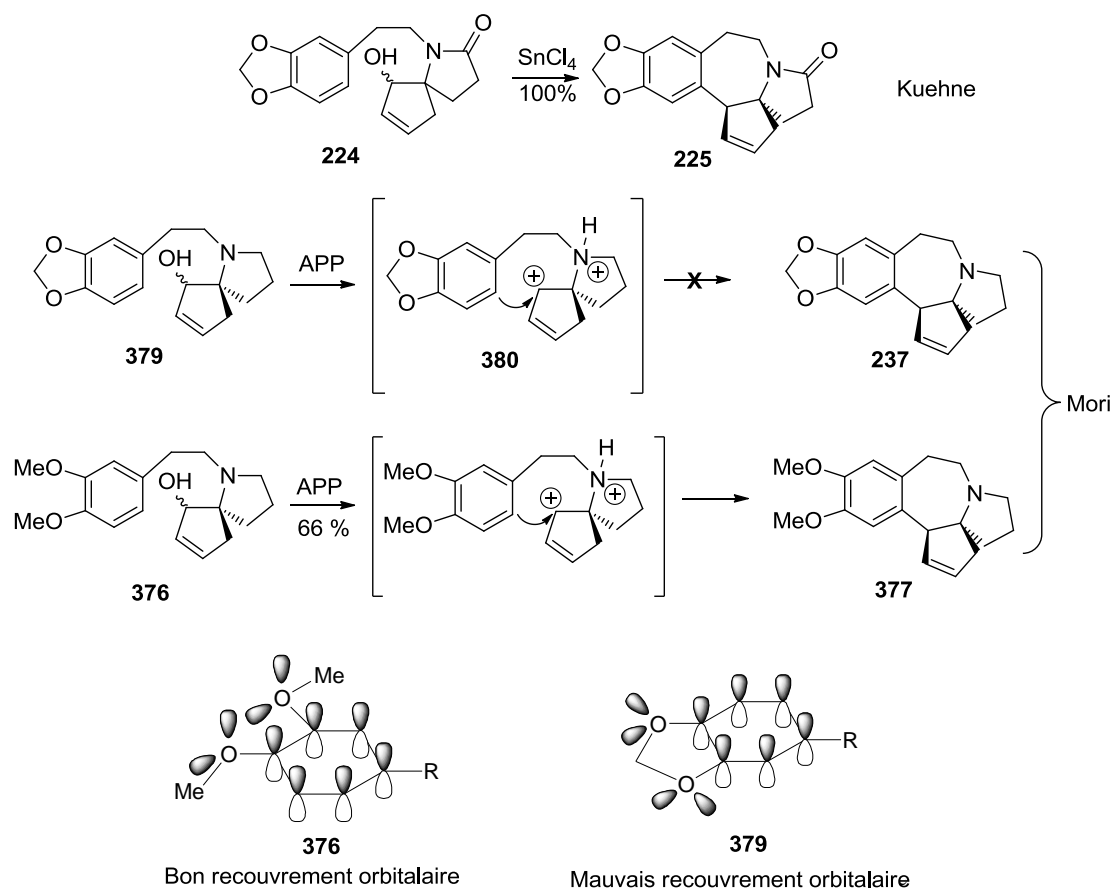


Schéma 41

En résumé, la réaction de cyclisation de Mori est moins favorisée que celle de Kuehne à cause d'une probable protonation de l'atome d'azote et cela nécessite d'utiliser un noyau aromatique enrichi en électrons.

A partir du composé cyclisé **377**, Mori forme le système benzodioxole en deux étapes pour aboutir au composé **237** qui est oxydé par OsO_4 pour donner le diol **28**. A ce stade, Mori ne peut utiliser les conditions de la littérature pour accéder à l'éther d'énol dérivé de la céphalotaxinone **35** car elles entraînent une racémisation quasi complète du produit. En revanche, l'acétalisation régiosélective par l'orthoformiate de méthyle suivie d'une réduction par le borohydrure de sodium fournit la (-)-CET sans perte de l'activité optique. Par cette méthode, Mori propose ainsi la première synthèse énantiosélective de la (-)-CET naturelle en 18 étapes avec un rendement global de 1,6% et un ee de 86%.

204 C.-K. Sha, J.-J. Young, C.-P. Yeh, S.-C. Chang, S.-L. Wang, *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 2694-2696.

e) Synthèse énantiosélective d'Ikeda

En 1999, Ikeda propose une version asymétrique de sa première synthèse en développant un accès énantiosélectif à l'intermédiaire **215** par utilisation comme Mori de la *D*-proline (non naturelle) qui fournit le cycle C et l'atome de carbone C₄ (Schéma 42).²⁰¹

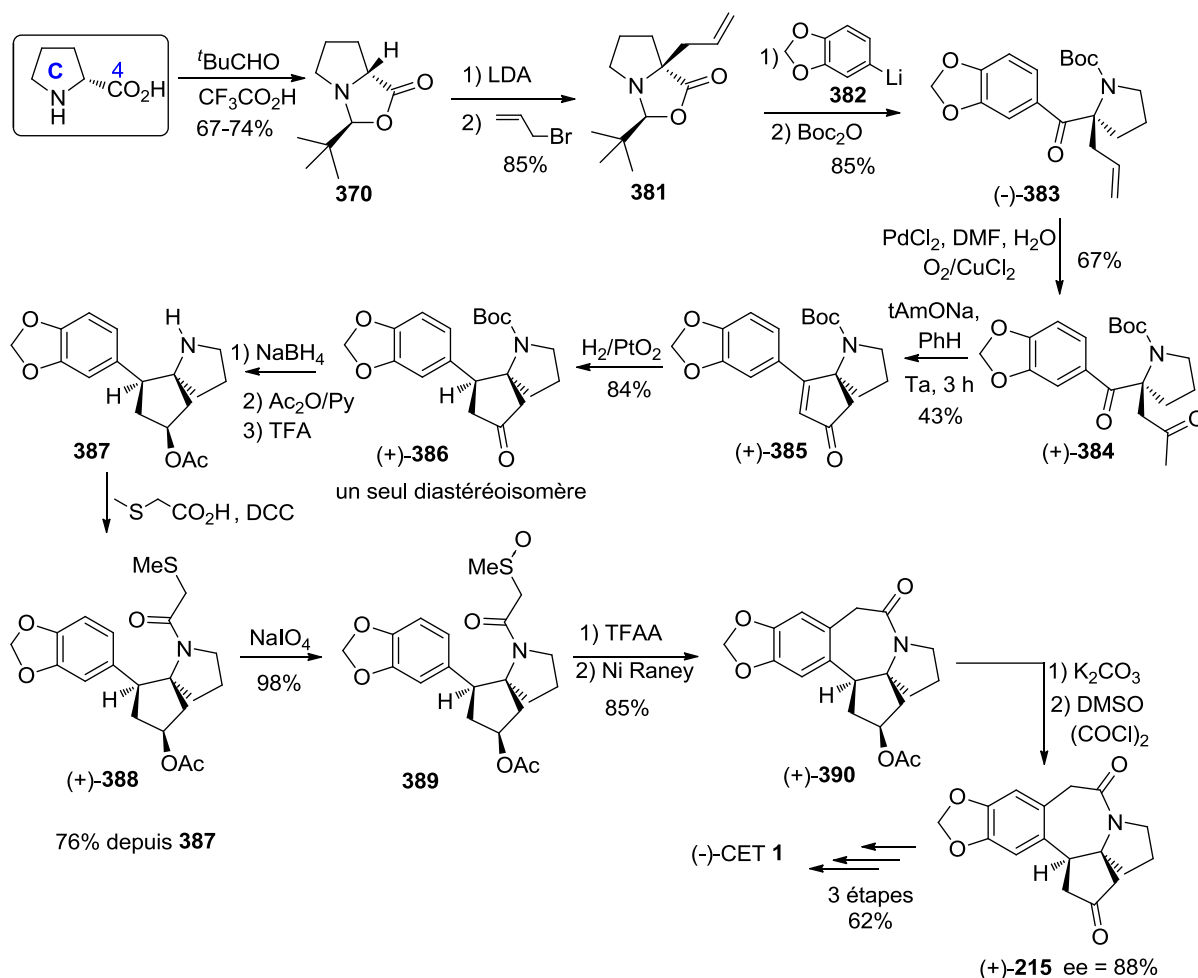


Schéma 42 : synthèse formelle énantiosélective d'Ikeda

Le composé **370**, obtenu à partir de la (+)-*D*-proline selon la méthode de Seebach, est alkylé pour donner le dérivé **381**. L'organolithien **382** est alors additionné et l'amine libre est protégée pour fournir l'adduit chiral **383**. Une réaction de Wacker suivie d'une réaction d'aldolisation-crotonisation de la dione **384** pour former le cycle D conduit au composé **385**. L'hydrogénation diastéréosélective de l'énone **385** permet à Ikeda d'accéder au dérivé **386** qui possède les centres C₄ et C₅ dans la bonne configuration absolue. En reprenant sa stratégie établie en série racémique, il forme alors le cycle B en six étapes en utilisant une réaction de Pummerer (**389** → **390**). Le synthon **215**, utilisé par Hanaoka et Ikeda dans leur synthèse racémique respective, est obtenu à partir de **390** en deux étapes par déprotection de la fonction

hydroxyle puis oxydation de Swern. Ikeda propose ainsi une synthèse formelle asymétrique de la (-)-CET **1** avec un excès énantiomérique de 88% mesuré par HPLC chirale, en 19 étapes et 5,4% de rendement global.

f) Synthèses de Hayes

Hayes a complété avec succès une nouvelle synthèse formelle de la (-)-CET **1** basée sur une étape clé d'insertion de 1,5-CH d'alkylidène carbène pour former le système azaspiranique CD stéréocontrôlé.²⁰⁵ Le précurseur de carbène choisi est le chloré vinylique **396** préparé en sept étapes et 50% de rendement global à partir de la *L*-proline via le *N*-Boc-prolinate de méthyle **391** dont la réduction avec le DIBAL-H donne l'aldéhyde **392** qui est homologué avec la 1-triphénylphosphoranylidène-2-propanone pour donner l'énone *E* **393** (Schéma 43). Celle-ci est réduite par hydrogénation catalytique en présence de Pd(OH)₂/C donnant la cétone **394** qui est convertie par réaction de Wittig en chloré vinylique **395** (3:1, *E:Z*), l'atome d'azote est alors déprotégé par l'acide trifluoroacétique conduisant à la pyrrolidine **396**.

Le couplage de la pyrrolidine **396** avec l'acide carboxylique **172** par le 1-éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide (EDCI) et l'hydroxybenzotriazole (HOBt) puis la réduction par LiAlH₄ de l'amide a fourni le précurseur de l'alkylidène carbène désiré **398**. La réaction d'insertion 1,5-CH de carbène alkylidène est effectuée par traitement à l'hexaméthyldisilazidure de potassium (KHMDs) à température ambiante pour fournir le dérivé [4,4] azaspirononane **399** avec un rendement de 65-79%. L'iodation aromatique régiosélective par l'iode en présence de trifluoroacétate d'argent et d'acide trifluoroacétique donne le composé clé **400** dont la structure, déterminée par diffraction des rayons X, permet de déterminer sa configuration absolue grâce à l'atome d'iode et de démontrer que la réaction d'insertion de carbène (**398** → **399**) a lieu avec rétention de configuration comme attendu. L'iodé **400** est cyclisé par réaction de Heck en utilisant des conditions de Fu²⁰⁶ modifiées (Pd(OAc)₂, P^tBu₃.HBF₄, Cs₂CO₃ dans le dioxane à reflux) en unité pentacyclique **401** avec 61% de rendement, accompagnée de l'énamine **402** formée avec 30% de rendement.

205 W. R. Esmieu, S. M. Worden, D. Catterick, C. Wilson, C. J. Hayes, *Org. Lett.*, **10**, **2008**, 3045-3048.

206 A. F. Littke, G. C. Fu, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6989-7000.

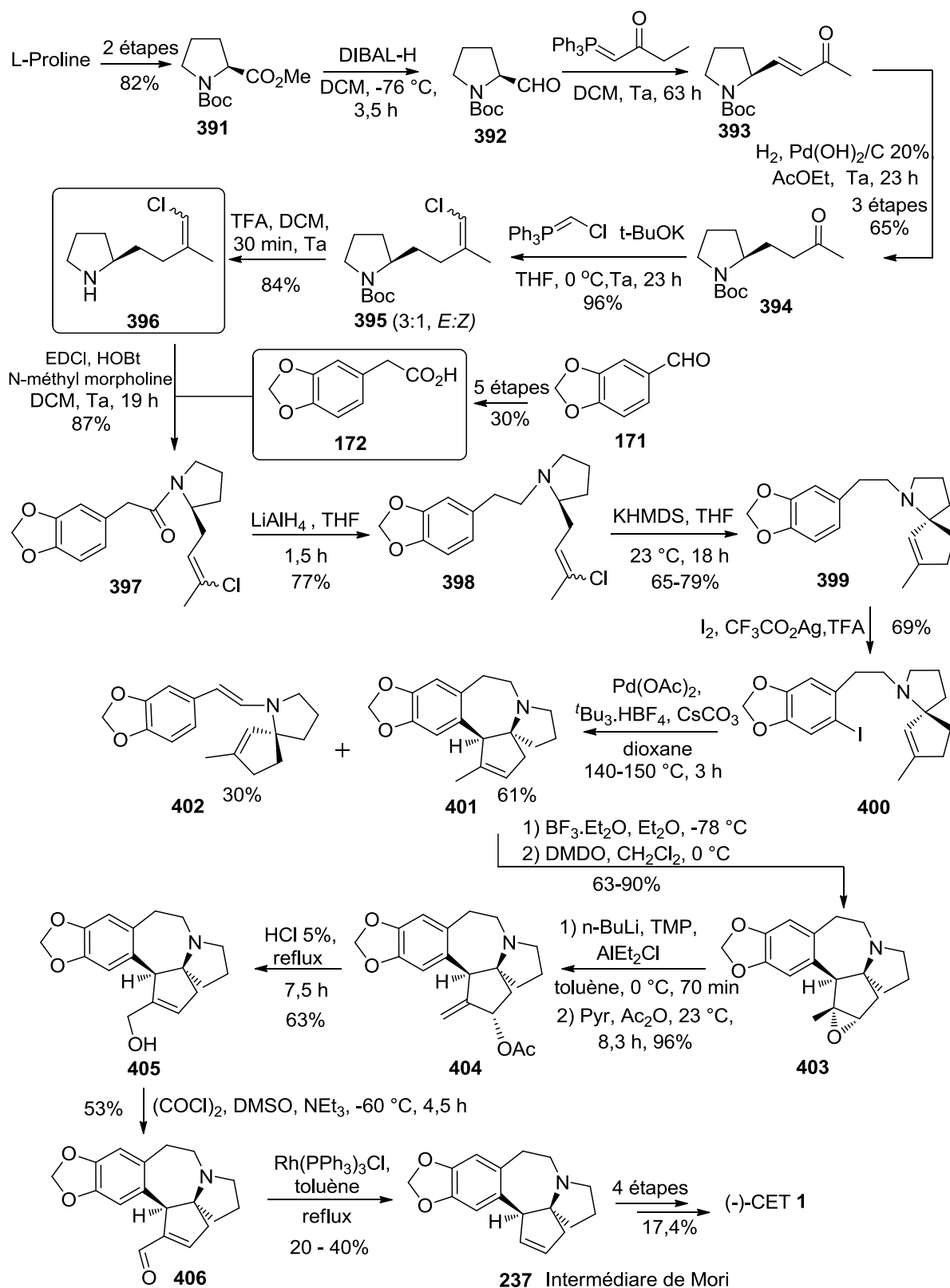


Schéma 43 : Synthèse de Hayes

L'élaboration du cycle D nécessite d'enlever le carbone excédentaire par décarbonylation de l'aldéhyde **406** préparé comme suit : l'époxyde **403**, obtenu par oxydation

de l'oléfine **401** au diméthylldioxyrane après complexation de l'amine avec $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ avec un rendement de 63-90%, conduit par réarrangement régiosélectif dans les conditions de Yamamoto²⁰⁷ à un alcool allylique protégé sous forme d'acétate allylique **404** avec 96% de rendement. Celui ci est transposé en alcool primaire **405** en milieu acide aqueux avec 63% de rendement. Après oxydation de Swern, l'aldéhyde **406**, traité avec le catalyseur de Wilkinson dans le toluène à reflux conduit à l'intermédiaire de Mori¹⁸⁰ **237**, récupéré quantitativement mais instable sur silice (20-40%) pouvant être converti en (-)-céphalotaxine **1**, ce qui permet à Hayes de compléter une synthèse asymétrique formelle avec 75% ee en 22 étapes et 0,1% de rendement global.

g) Synthèse énantiosélective de Tietze

En 1999, Tietze propose une version asymétrique²⁰⁸ de sa précédente synthèse de la céphalotaxine **1** en utilisant l'oxazaborolidine de Corey **410**²⁰⁹ pour réduire de façon énantiosélective la cétone **409** (Schéma 44).

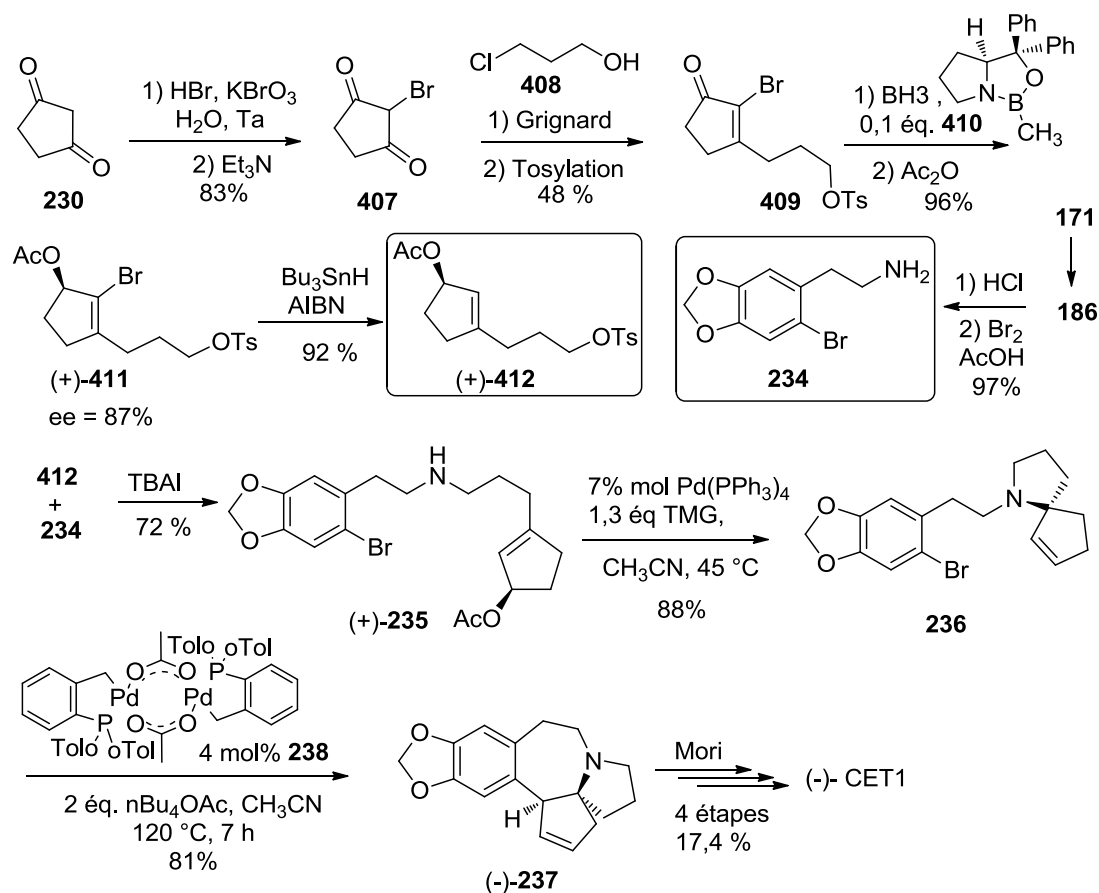


Schéma 44: Synthèse énantiosélective de Tietze

207 A. Yasuda, S. Tanaka, K. Oshima, H. Yamamoto, H. Nozaki, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 6513-14.

208 L. F. Tietze, H. Schirok, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 10264-10269.

209 E. J. Corey, C. Helal, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1998**, 37, 1986-2012.

La cétone **409** est préparée par bromation de la cyclopentanedione **230** au bromate de potassium puis réaction de Grignard du chloré **408** et tosylation avec 40% de rendement pour les 3 étapes. L'acétate chiral **411** préfigurant le cycle D est ainsi préparé avec un excès énantiomérique de 87% mesuré par RMN du proton en présence de sels d'euprium chiraux. Tietze utilise ensuite la voie synthétique déjà établie en couplant l'amine aromatique bromé **234** et en achevant la formation des cycles B, C et D par deux étapes consécutives pallado-catalysées stéréosélectives. La céphalotaxine naturelle (-)-**1** est ainsi obtenue sans érosion de l'activité optique avec 87% ee en 13 étapes à partir de la dione **230** et 3,1% de rendement global (Schéma 44).

h) Synthèse de Gin 2008

Plusieurs étapes clés ont été utilisées par Gin et ses collaborateurs pour la synthèse totale de la (-)-CET **1**: l'introduction d'atome de l'azote par l'oxime **423** suivie par un réarrangement réductif de Neber conduisant à l'arizidine **424**; la construction du noyau benzazépine effectuée par un réarrangement [3,3]-sigmatropique de *N*-vinyl-2-aryle aziridine.²¹⁰ Le cycle spiropyrrolidinique est construit par cycloaddition 1,3-dipolaire d'un ylure d'azométhine **428** dérivé d'un vinologue d'amide **427** (énaminone). Le contrôle de chiralité est effectué par l'incorporation du cycle D énantipur **3** substitué en C₁ et C₂. De façon inattendue, un seul diastéréoisomère **429** est obtenu par l'introduction du groupe isopropylidène avec la paire de l'azote du dipôle 1,3 avant de former le cycle C. Le cycle D a été préparé à partir de D-ribofuranose pour donner la β-chloroénone chirale (-)-**421**.²¹¹

La synthèse commence par la double protection du *D*-ribose avec un rendement de 83% (Schéma 45). Une méthylénation (75%) suivie par une oxydation de Parikh-Doering fournit la cétone **416** avec un rendement de 88%, qui est alkylée par le bromure de vinyl magnésium pour donner l'alcool **417** sous forme d'un mélange de diastéréoisomères inséparables (8:1) avec un rendement de 93%. Une réaction de métathèse est ensuite effectuée par le catalyseur de Grubbs II pour conduire au cyclopentène **418** avec 95% de rendement. Une réaction régiosélective de chlorosélenylation de l'alcène suivie par l'élimination oxydative du sélénioxyde et la déprotection de fonction alcool a fourni le composé **420** avec un rendement de 97%. La β-chloroénone **421** est finalement obtenue par clivage oxydatif du diol **420** au periodate de sodium avec un rendement de 90%.

210 J. D. Eckelbarger, J. T. Wilmot, M. T. Epperson, C. S. Thakur, D. Shum, C. Antczak, L. Tarassishin, H. Djaballah, D. Gin, *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, 4293-4306.

211 Y. H. Jin, P. Liu, J. Wang, R. Baker, J. Huggins, C. K. Chu, *J. Org. Chem.*, **2003**, *68*, 9012-9018.

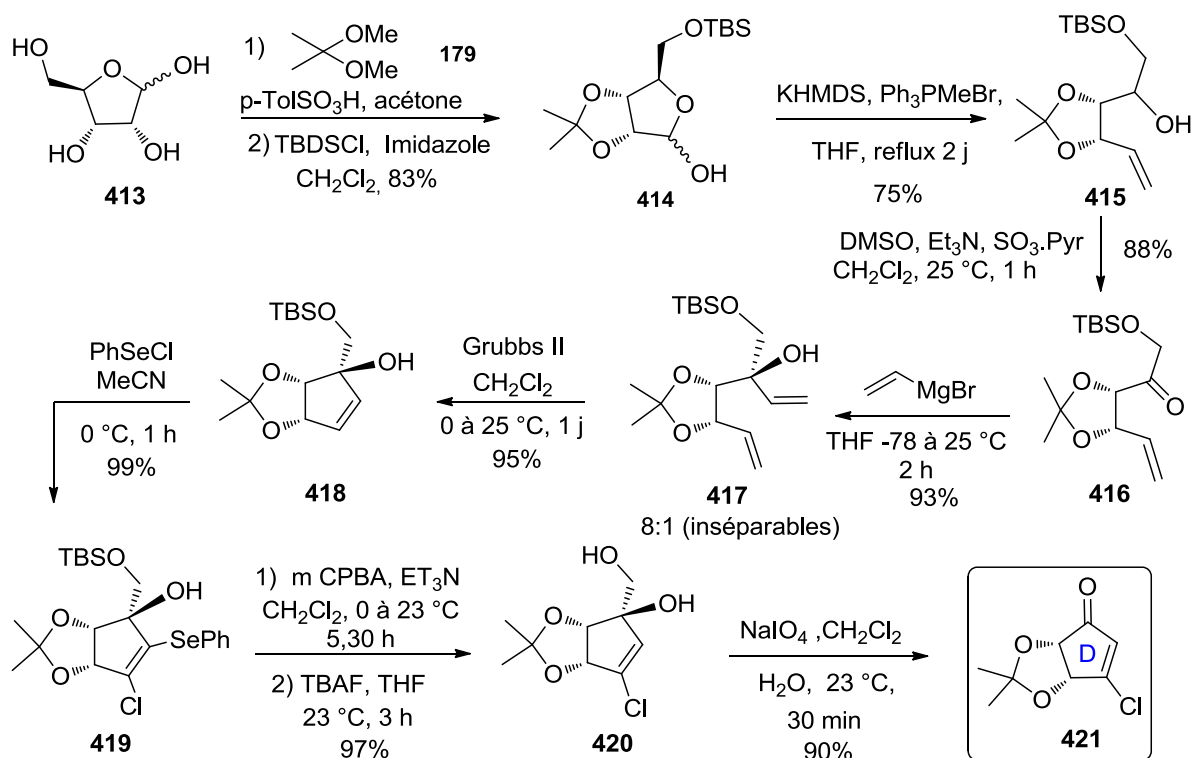


Schéma 45 : Synthèse de Gin, formation de l'unité D

La condensation de l'acétophenone **422**, préparée par acylation de Friedel Crafts du 1,2-méthylènebenzodioxole **183**,²¹² avec le chlorhydrate d'hydroxylamine fournit l'oxime **423** avec un rendement de 78%. Le réarrangement réductif de Neber par LiAlH_4 et la diisopropylamine à température élevée conduit à l'arizidine **424** avec un rendement de 88% qui s'additionne sur la β -chloroénone **421** fournissant le composé **425** sous forme d'un mélange 1:1 de diastéréoisomères avec un rendement de 85%. La formation de la benzazépine **426** par le réarrangement [3,3]-sigmatropique favorisé par l'ouverture de l'aziridine est effectuée par le carbonate de césium dans le dioxane avec un rendement de 76%. Pour construire le cycle C, la *N*-alcénylation par TMSCH_2I fournit l'amide vinylogue tertiaire avec un rendement de 75%, après O-activation par le triflate de pivaloyl généré *in situ* par le chlorure de pivaloyl et AgOTf , est désilylé par le TBAF pour former l'ylure d'azométhine **428** qui réagit avec la phényl vinyl sulfone par cycloaddition dipolaire stéréo- et régiosélective formant la spiro-pyrrolidine **429** avec 77% de rendement. La configuration absolue désirée *R* en C5 de **429** est déterminée par diffraction des RX. Finalement, la désulfonation radicalaire est effectuée, suivie de l'hydrolyse du pivalate et la re-acylation par le chloroformiate de benzyle conduit à l'intermédiaire **430** avec un rendement de 63%.

212 T. Harada, T. Ohno, S. Kobayashi, T. Mukaiyama, *Synthesis*, **1991**, 1216-1220.

Après la déprotection de la fonction diol, la difficulté de protection sélective de l'hydroxyle en C₁ a été résolue par l'emploi de Boc₂O et Yb(OTf)₃. L'oxydation de l'hydroxyle en C₂ effectuée par IBX fournit l'énone **431** avec un rendement de 50% qui réagit avec le chlorure de chrome conduisant à l'élimination de la fonction O-Boc en C₁ et à la déprotection de la fonction alcool en C₃ pour arriver à la déméthycéphalotaxinone **35** transformée par Weinreb en CET **1**.¹⁶² Cette synthèse permet de préparer la (-)-céphalotaxine **1** en 24 étapes avec un rendement de 1,6% (Schéma 46).

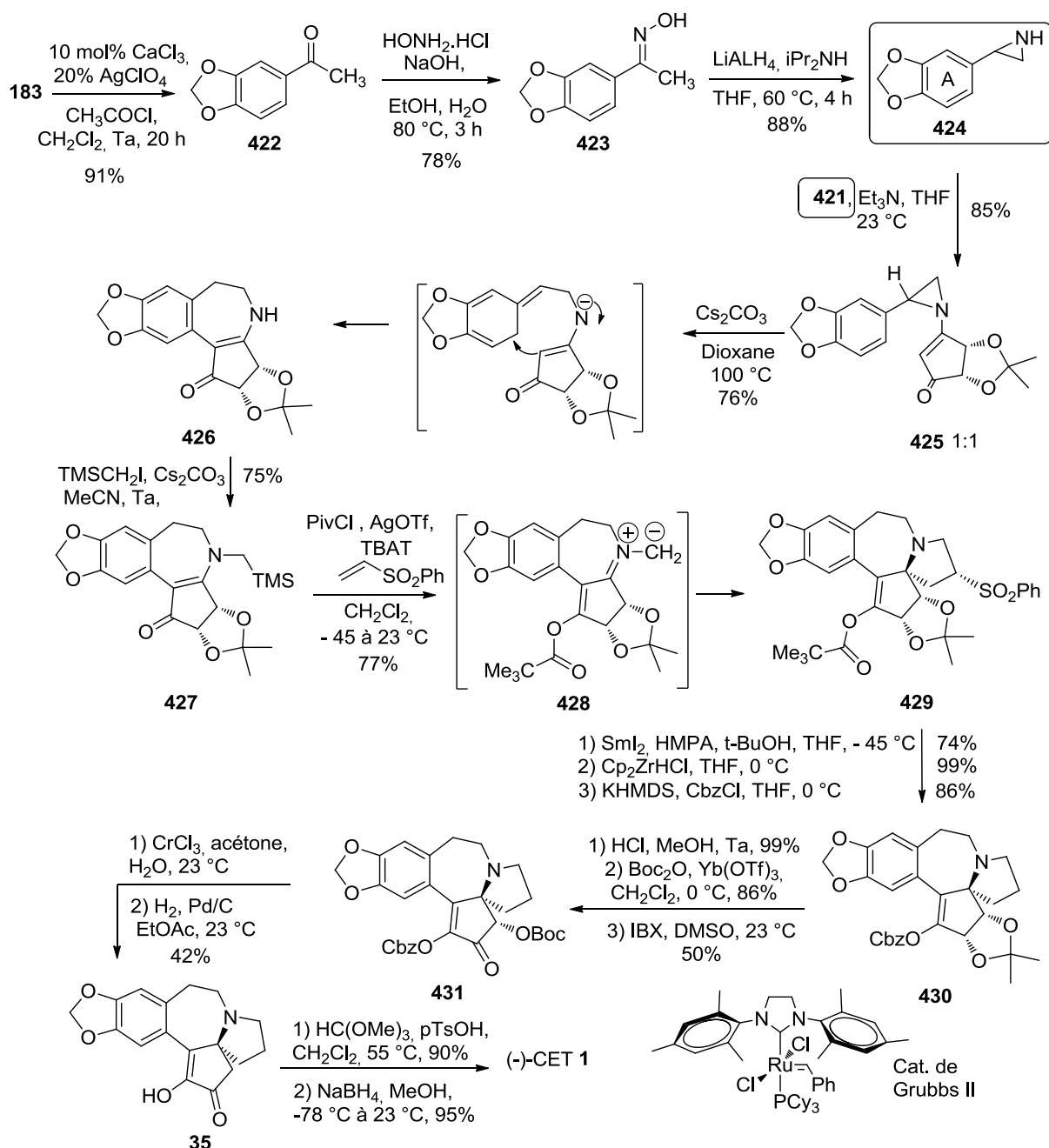


Schéma 46 : Synthèse de Gin

i) Synthèse d'Ishibashi

Un élément caractéristique de la synthèse est la construction simultanée des cycles B et C de la céphalotaxine **1**. En 2008, Ishibashi a présenté une application de cette méthode, à une synthèse concise de la (-)-CET **1**.²¹³ La préparation de la cyclopentanone **437** optiquement active commence par la transformation du diéthyl *D*-(-)-tartrate en tosylate puis en triflate **433** qui réagit avec le phénylacétylure de lithium pour fournir l'acétylénique **434** (Schéma 47).

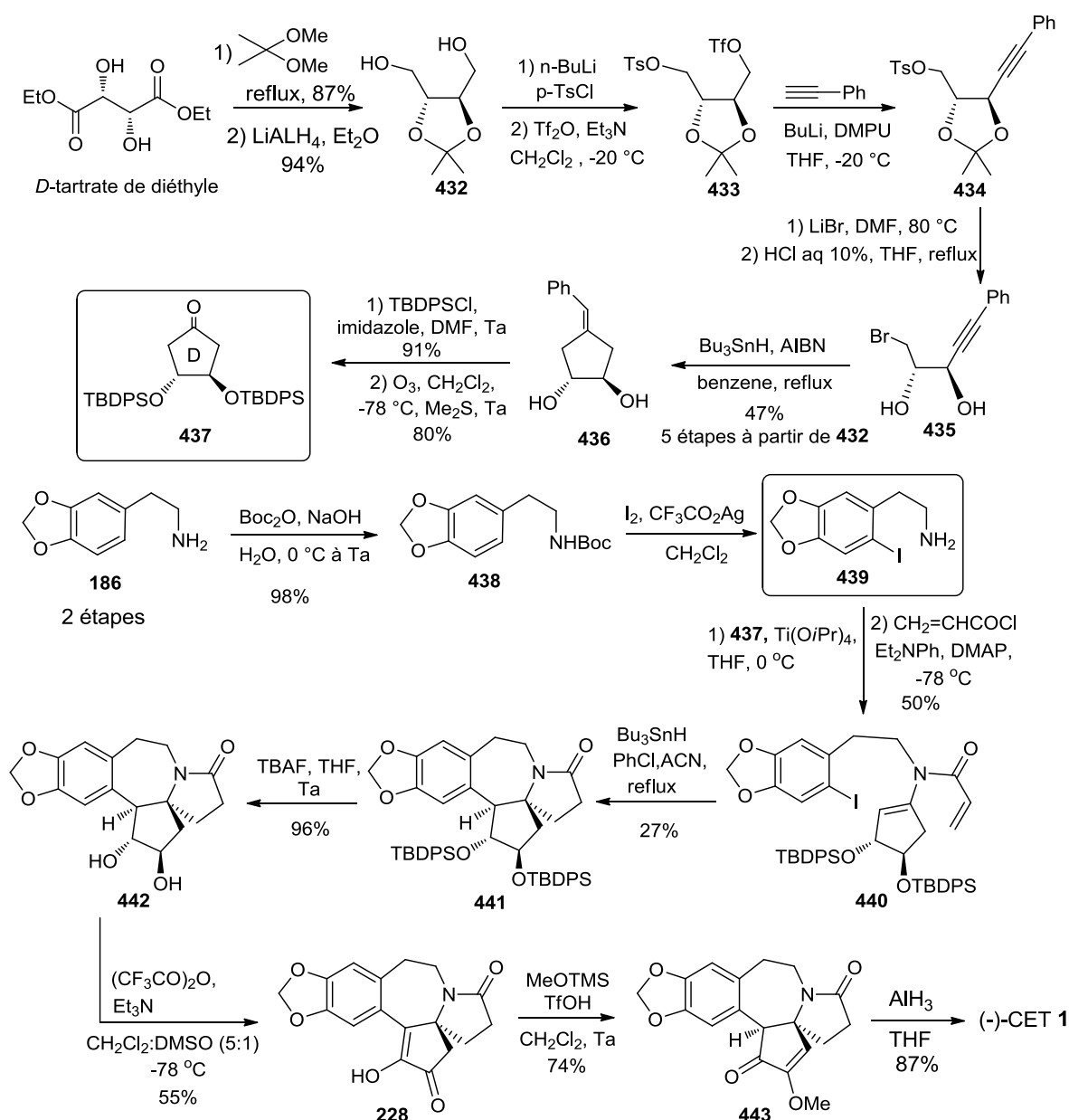


Schéma 47 : Synthèse d'Ishibashi

La condensation de l'amine **439** avec la cyclopentanone **437** en présence de $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ a fournit une imine, qui est acylée par le chlorure d'acryloyle pour donner l'énamide **440** avec 50% de rendement (Schéma 47). La réaction radicalaire en cascade de l'énamide **440** par Bu_3SnH en présence de 1,1'-azobiscyclohexanecarbonitrile (ABCN) au reflux construit les deux cycles simultanément par un processus de type 7-*endo* et 5-*endo* du composé **441** avec 27% de rendement. La déprotection des fonctions alcool silylés au TBAF donne le diol **442** avec 96% de rendement qui par oxydation successive avec TFAA, DMSO et la triéthylamine conduit au composé **228** avec un rendement de 55%. La cétone **228** est traitée par le méthoxytriméthylsilane selon Royer²¹⁶ pour donner la cétone **443** convertie en (-)-CET **1** par réduction à l'alane, achevant une synthèse asymétrique en 17 étapes avec un rendement global de 1,4%.

j) Synthèse asymétrique de Nagasaka

En 1997, Nagasaka propose une synthèse asymétrique de la (-)-CET **1** naturelle par résolution, *via* des acétals chiraux, de l'intermédiaire spiranique **450** portant les cycles C et D.²¹⁴ Celui-ci est ensuite utilisé pour la préparation du composé **223** qui est un intermédiaire dans la synthèse de la céphalotaxine développée par Kuehne¹⁷⁷ (Schéma 48).

L'alkylation de l'énamine de Stork **446** de la cyclopentanone par l'acrylate de méthyle fournit l'adduit **218**. Après formation de l'éther d'énol acétylé **448**, Nagasaka introduit le groupement nitro par réaction avec le nitrate d'ammonium en présence d'anhydride trifluoroacétique pour former **449**. La réduction du groupement nitro et la lactamisation *in situ* permettent la formation du système spiranique **450**. La réaction d'acétalisation utilisant le (*R,R*)-(-)-2,3-butanediol fournit le couple de diastéréoisomères (-)-**451** et (+)-**451** qui sont ensuite séparés par HPLC. L'alkylation de (-)-**451** et (+)-**451** par le composé **452** fournit respectivement les intermédiaires utilisés par Kuehne¹⁷⁷ (-)-**223** et (+)-**223** avec une haute pureté énantiomérique (supérieure à 99%, déterminée par HPLC chirale). Finalement, en utilisant la séquence mise au point par Kuehne, Nagasaka accède à la (-)-CET **1** naturelle et à son énantiomère synthétique (+)-**1** en 15 étapes et une séparation par HPLC et 6,2% de rendement global.

214 T. Nagasaka, H. Sato, S.-I. Saeki, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1997**, 8, 191-194.

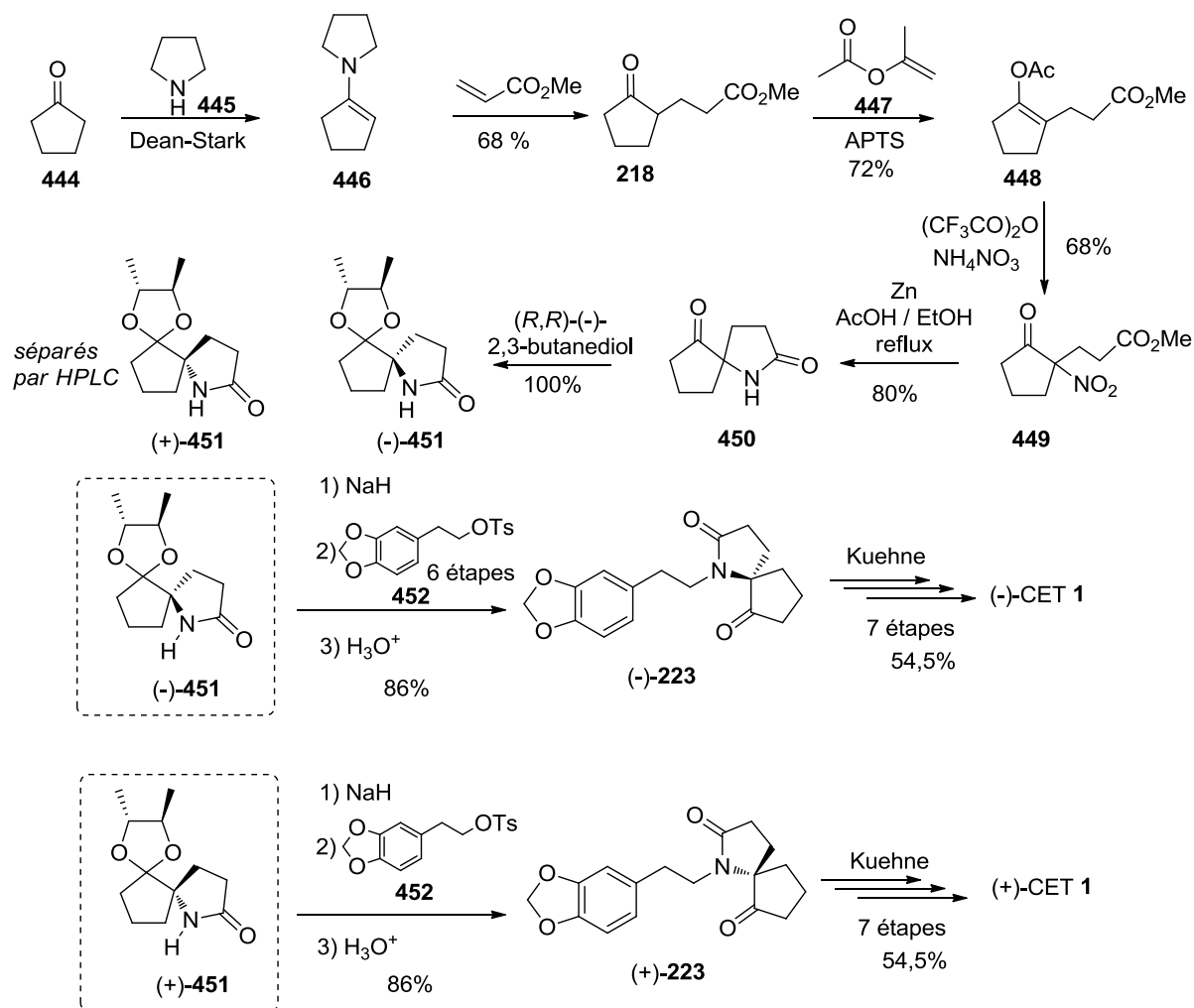


Schéma 48 : Synthèse de Nagasaka

k) Synthèse énantiosélective de Royer

En 2002, Royer décrit un accès énantiosélectif à l'unité azaspiranique CD **459** en utilisant la (*S*)-1-naphtyléthylamine **453** comme source d'azote chirale,²¹⁵ puis en 2003, il développe une synthèse énantiosélective de la (-)-céphalotaxine **1** à partir de l'unité **459**,²¹⁶ en s'inspirant des synthèses de Kuehne¹⁷⁷ et Nagasaka²¹⁴ (Schéma 49).

Le silyloxy-pyrrole **454** est préparé à partir de la (*S*)-1-naphtyléthylamine **453** qui est engagée dans une réaction de Mukaiyama vinylogue avec la cyclobutanone. L'adduit **455** ainsi obtenu est engagé dans un réarrangement semi-pinacolique en milieu acide pour donner l'intermédiaire spiranique **457**. Le *N*-acyliminium **456** est attaqué préférentiellement en *anti* du groupement naphthyle et le composé **457** est ainsi obtenu avec un excès diastéréoisomérique (ed) d'environ 80%. Une recrystallisation du diastéréoisomère

215 L. Planas, J. Pérard-Viret, J. Royer, M. Selkti, A. Thomas, *Synlett*, **2002**, 10, 1629-1632.

216 L. Planas, J. Pérard-Viret, J. Royer, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 3087-3092.

majoritaire permet de continuer la synthèse avec un composé possédant un ee supérieur à 99%. Après protection du carbonyle puis hydrogénolyse de l'inducteur chiral, la partie aromatique **452** est couplée pour fournir le composé (-)-**223** énantiomériquement pur. En reprenant les étapes développées par Kuehne, Royer accède rapidement au composé **441** qui est finalement réduit par l'hydruire d'aluminium pour donner la (-)-CET **1** avec un ee supérieur à 98% et un rendement global de 8,3% en 17 étapes.

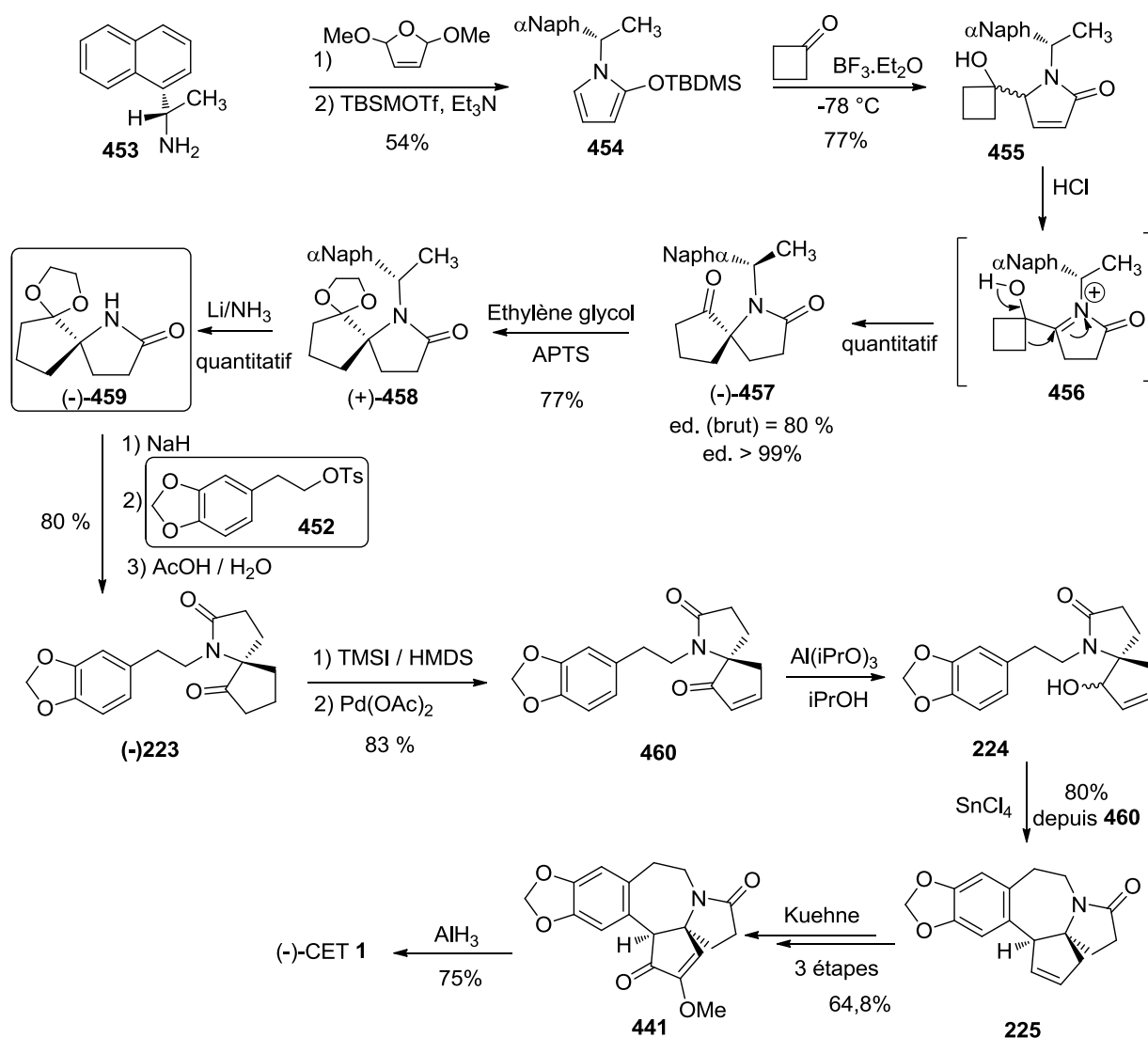


Schéma 49 : Synthèse énantiosélective de Royer

I) Synthèse formelle de Dumas et d'Angelo

La stratégie de synthèse asymétrique de la (-)-CET **1** développée visait à préparer une unité azaspiranique CD énantiopure à partir d'un céto-diester de configuration (*R*)-**464**.²¹⁷ En

217 M. Pizzonero, F. Dumas, J. d'Angelo, *Heterocycles*, **2005**, 66, 31-37.

effet, le seul contrôle du centre tétrasubstitué C₅ permet celui des deux centres asymétriques C₃ et C₄ de la céphalotaxine.

A partir du 2-oxo-cyclopenténoate de méthyle **464**, l'énaminoester **463** est obtenu avec un rendement de 95% par condensation avec la (*R*)-1-phényléthylamine en présence d'un catalyseur acido-basique constitué de tamis moléculaire et d'un mélange silice/alumine. L'alkylation par la réaction de Michael est effectuée en présence d'un acide de Lewis, MgBr₂ pour donner le composé **464** après hydrolyse avec l'acide acétique avec un rendement de 70% et 91% ee. La réduction stéréosélective de la fonction cétone est effectuée après complexation par le chlorure de cérium avec du borohydrure de sodium à -78 °C pour fournir l'hydroxy-diester **465** qui est saponifié par la lithine (Schéma 50).

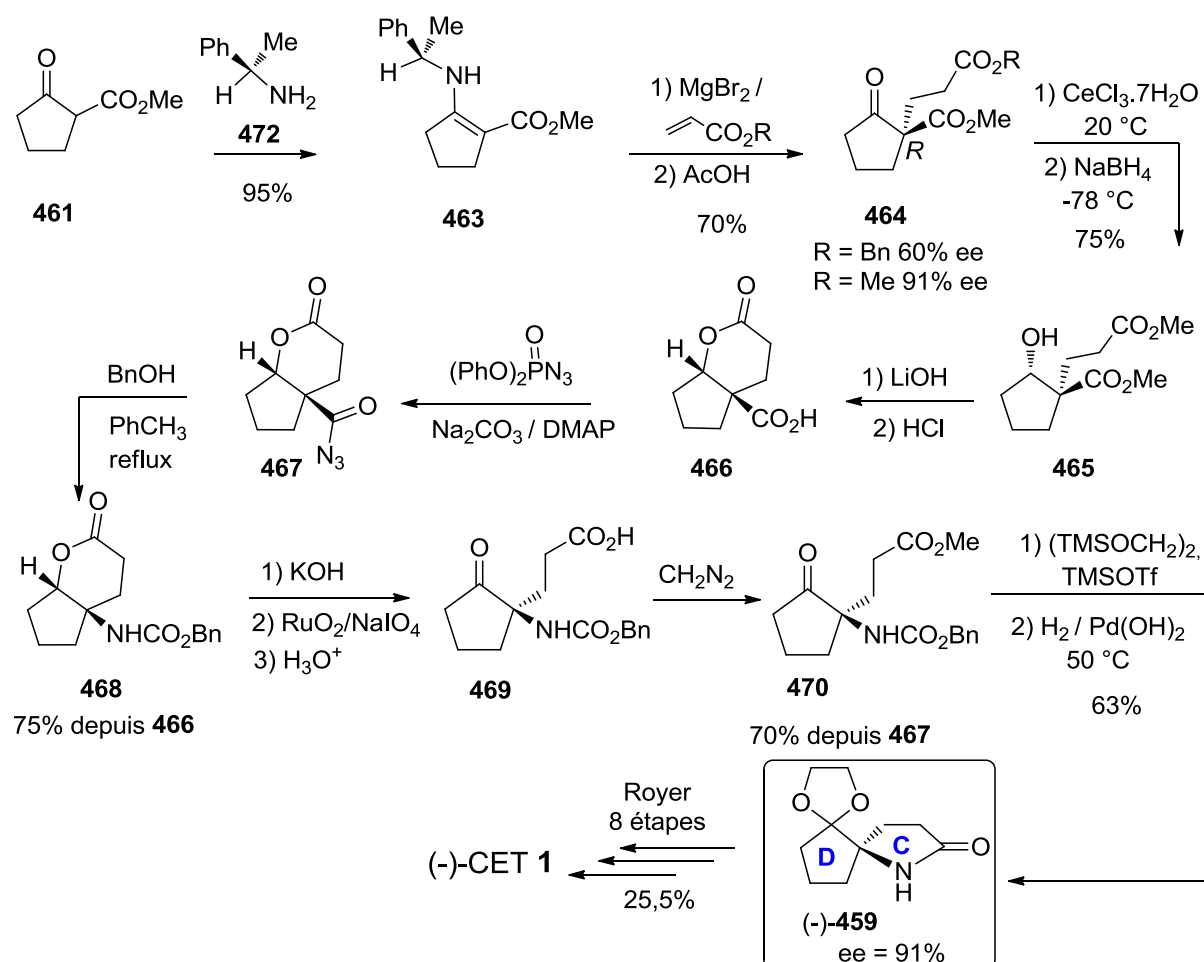


Schéma 50: Synthèse de Dumas et d'Angelo

L'acidification du dicarboxylate de lithine forme la lactone **466** avec un rendement de 75% sous forme d'un seul diastéréoisomère. L'acyle azide **467** est obtenu par réaction de la lactone acide **466** avec l'azidure de diphenylphosphonate. La saponification par la potasse

suivie d'une oxydation *in situ* par le tétr oxyde de ruthénium fournit l'acide **469** qui est ensuite estérifié par le diazométhane pour donner le céto ester **465** avec un rendement global de 70% pour les trois étapes. La cétone est protégée sous forme d'acétal et engagée directement dans la réaction de débenzylation a permis d'obtenir le composé cible (-)-**459**. Cette stratégie de synthèse permet un accès énantiosélectif à l'unité spiranique CD (-)-**459** en 10 étapes avec un rendement global de 16% (Schéma 50). L'unité azaspiranique (-)-**459** ayant été transformée par Royer en (-)-céphalotaxine en 10 étapes et 25,5% de rendement, cette synthèse formelle permet d'accéder à la (-)-CET **1** en 20 étapes avec 4,2% de rendement global et 91% ee.

m) Synthèses de Mariano

Mariano et collaborateurs ont fourni une contribution significative à la chimie de la céphalotaxine **1** en développant plusieurs approches synthétiques originales.²¹⁸ Après un travail portant sur une approche par cyclisation transannulaire hypothétiquement biomimétique (voir Schéma 26, page 101), Mariano a développé une synthèse formelle de (-)-CET **1** basée sur une réaction de photocyclisation du perchlorate de 1,2-cyclopentapyridinium **472** conduisant à l'aziridine **474** (Schéma 51), puis a amélioré cette synthèse asymétrique formelle visant l'intermédiaire de Suga et Yoshida¹⁸¹ (Schéma 21, p 80).

La synthèse commence par la préparation du perchlorate de cyclopentapyridinium **472**²¹⁹ qui est engagé dans la réaction de photocyclisation conduisant à l'aziridine tricyclique **474** dont l'ouverture régiosélective par l'acide acétique et la protection à l'azote par le groupement Boc puis de l'alcool par un acétate et enfin la déprotection de l'atome d'azote au (TFA) conduit à l'intermédiaire spirocyclique achiral **477** obtenu en cinq étapes avec 38% de rendement. Le diacétate **477** est désymétrisé par l'acétylcholinestérase (AChE) de l'anguille électrique, avec un excès énantiomérique de 80 à 90% en amino alcool **478**, augmenté après une recristallisation à un ee > 95% (46% de rendement), directement acylé avec le chlorure d'acyle **266** pour donner l'amide ACD **479** avec 80% de rendement pour les deux étapes. Pour enlever la fonction hydroxyle en C₁, celui-ci est transformé oxalate mixte **480**, par acylation avec le chlorure d'oxalate, qui subit une désoxygénation radicalaire²²⁰ fournissant le composé **481** attendu (10%) accompagné du composé **482** (65%) dont la double liaison a migré en position 1,2. Le composé **481** est transformé en intermédiaire non cyclisé de Mori **281** par

218 Z. Zhao, P. S. Mariano, *Tetrahedron*, **2006**, 62, 7266-7273.

219 Z. M. Zhao, E. Duesler, C. H. Wang, H. Guo, P. S. Mariano, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 8508-8512.

220 D. H. R. Barton, W. B. Motherwell, A. Stange, *Synthesis*, **1981**, 743-45.

[illegible]

Le composé **482** est transformé en intermédiaire de Mori **281** en 5 étapes impliquant d'abord la saponification de l'acétate en alcool **483**, l'oxydation de l'alcool en cétone **267**, ce qui permet la migration de la double liaison en position 2,3 par le DBU, puis deux réductions

successives de la cétone et de l'amide. Cette synthèse formelle en 21 étapes (séquence linéaire la plus longue à partir de l'intermédiaire majoritaire **482**) permet d'arriver à la (-)-CET **1** avec un rendement de 0,55-0,6% et un excès énantiomérique de 99%.

La deuxième approche développée par Mariano²¹⁸ pour la synthèse formelle de la (-)-CET **1** conduit à l'unité ACD **249** qui est un intermédiaire clé dans la synthèse de Suga et Yoshida,¹⁸¹ comportant un alcène azaspiranique et un iodé aromatique.

La synthèse commence par l'alcool azaspiranique N-acétylé **487** préparé comme précédemment²¹⁹ par une séquence photocyclization / ouverture d'aziridine/ désymétrisation enzymatique avec 95% ee (1 recrystallisation), en 6 étapes et 16,1% de rendement à partir de la pyridine **470** (Schéma 52).

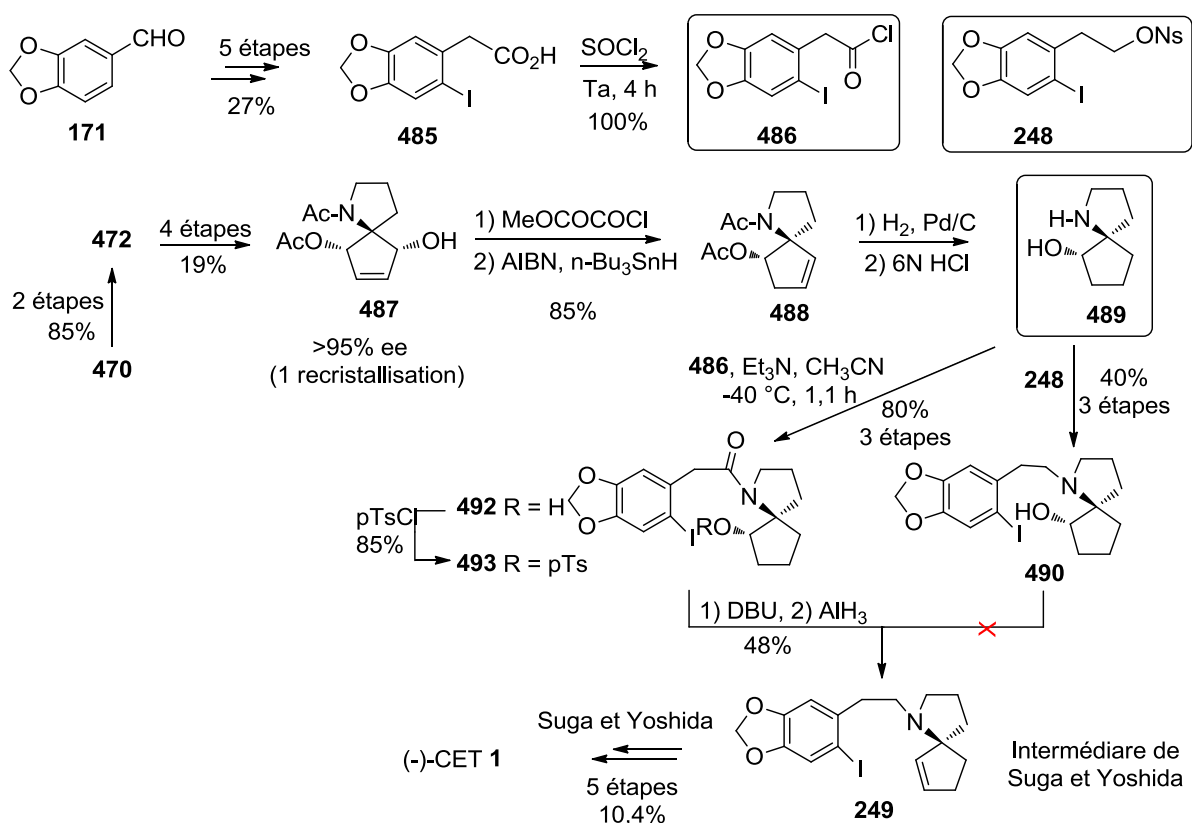


Schéma 52: Synthèse de Mariano

La réduction totale de la fonction hydroxyle en C₁ par désoxygénation radicalaire²²⁰ avec l'hydruire de tributyl étain en présence d'AIBN dans le toluène à reflux de l'oxalate mixte correspondant obtenu par acylation avec le chlorure d'oxalate, fournit uniquement l'acétate homoallylique **488** avec 85% de rendement. L'hydrogénation du composé **488** avec le palladium sur charbon à 10% dans l'éthanol génère l'amine saturé **489** qui réagit avec le 4-nitrobenzènesulfonate d'iodoaryléthyl **248**¹⁸¹ pour conduire à l'aminool spirocyclique **490**

avec 40% de rendement pour les 3 étapes (**488** → **490**). Suite au faible rendement de la réaction de *N*-alkylation de composé **489** et à l'échec de la déshydratation de l'alcool **490** pour fournir l'intermédiaire **494** attendu, l'amidoalcool **492** a été formé par couplage de l'aminoalcool **489** avec le chlorure de l'acide iodoarylacétique **486** avec 80% de rendement en 3 étapes (**488** → **492**).

La formation du tosylate **493** avec le *p*-TsCl suivie d'une élimination à l'aide de DBU permet d'obtenir l'amide insaturé **494** avec 70% de rendement. Enfin, la réduction de l'amide **494** par l'hydruure d'aluminium à basse température donne l'intermédiaire de Yoshida-Tietze **249** avec 60% de rendement, accompagné de 20% de produit réduit dé-iodé. Cette synthèse formelle permet d'arriver à la (-)-CET **1** en 18 étapes avec un rendement de 0,5%.

n) Synthèse de Stoltz

Stoltz réalise une synthèse asymétrique en introduisant une unité aromatique énantiopure (*R*)-**497** permettant d'accéder d'une part à la drupacine **27** et par une synthèse formelle aux deux énantiomères de la CET **1** (voir Schéma 21, p 82).¹⁸⁴ Celle-ci est obtenue à partir du pipéronal **171** en 3 étapes par formation de la cyanohydrine **494** et méthanolyse, suivie de l'hydrolyse de l'imidate intermédiaire **495** en ester puis en acide 3,4-méthylènedioxymandélique **496** avant un dédoublement avec la (-)-éphédrine en énantiomère (*R*)-**497** avec 30% de rendement et 97,5% ee.²²¹ L'acide 3,4-méthylènedioxymandélique est protégé en 1,3-dioxolan-4-one en condition acide dans l'acétone (Schéma 53). La bromation de **498** dans l'acétonitrile fournit l'aryl bromé **499** qui est réduit par le DIBAL-H à -78 °C pour donner l'hémiacétal **500** sous forme d'un mélange 1:1 de diastéréoisomères. Ce mélange réagit avec l'amine spiranique **256** dans des conditions d'amination réductrice pour fournir les bromés vinyliques diastéréoisomères **501** et **502** en rapport 1:1 avec 92% de rendement combiné. Après séparation par chromatographie sur silice, ces deux composés sont soumis aux conditions de réaction de Heck modifié pour produire les benzazépines (+)-**503** et (-)-**504** avec 67% et 21% de rendement après chromatographie, respectivement. Si le composé (-)-**504** est utilisé directement dans l'étape suivante, aucune perte due à sa très faible solubilité n'est observée et le produit de couplage (-)-**504** est obtenu avec un rendement brut de 71%.

221 D. G. Neislon, U. Zakir, C. M. Scrimgeour, *J. Chem. Soc. (C)*, **1971**, 898-904.

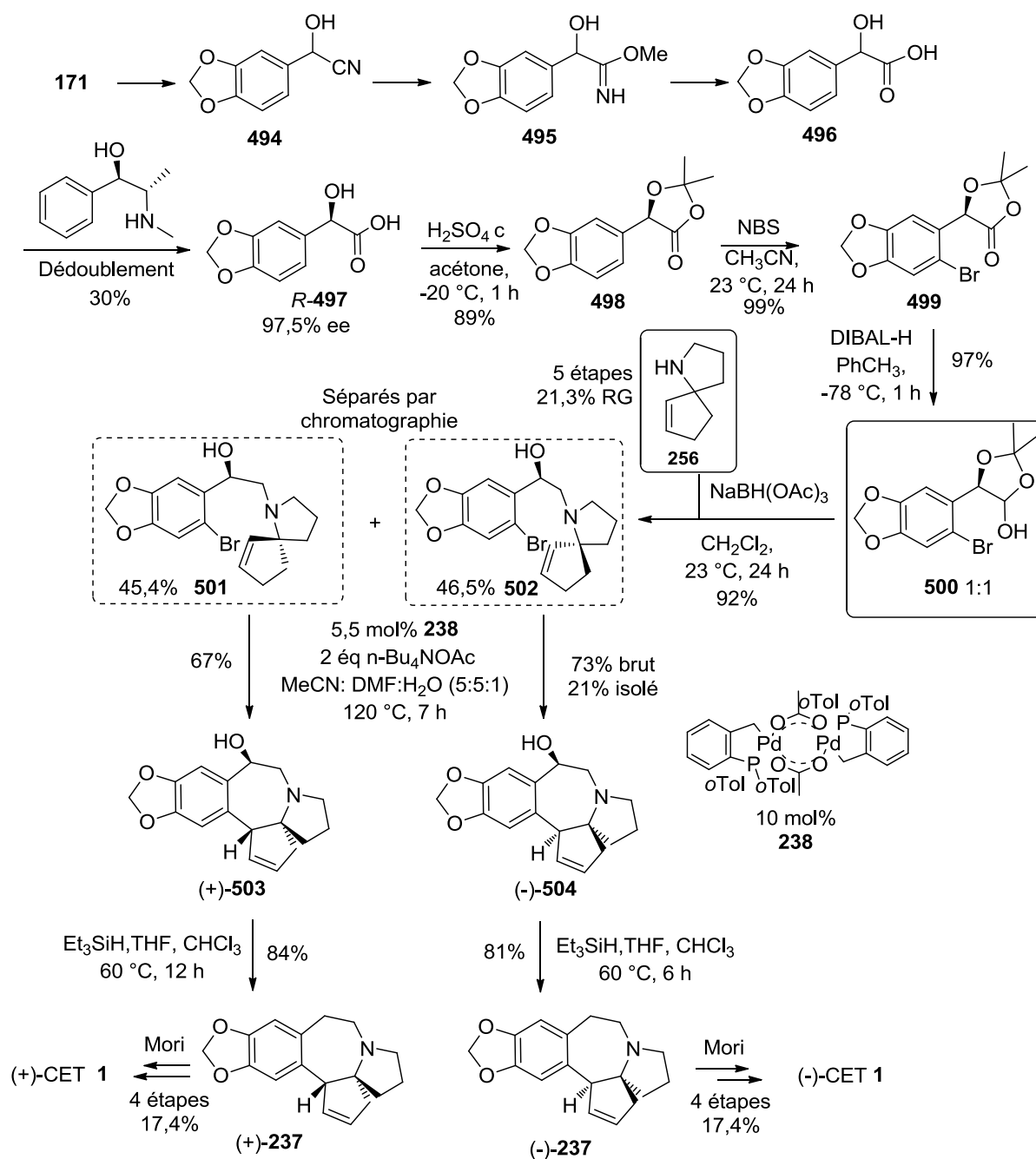


Schéma 53 : Synthèse de Stoltz

Le groupe hydroxyle benzylique est supprimé par désoxygénation ionique (Et_3SiH , $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$)²²² pour donner les intermédiaires pentacycliques (+)-**237** et (-)-**237** qui peuvent être transformés en (-)-CET **1** et son antipode (+)-**1** selon la procédure de Mori en 4 étapes avec 17,4% de rendement, complétant une synthèse formelle de la CET en 12 étapes à partir de la 2-carbométhoxycyclopentanone avec un rendement global de 1% et 0,9%, respectivement (Schéma 53).

o) Deuxième synthèse de Hayes

Cette deuxième synthèse formelle de la (-)-CET **1** (Schéma 54) de Hayes et collaborateurs²²³ est basée l'intermédiaire clé **518** dont le stéréocentre quaternaire C₅ est contrôlé comme précédemment par une réaction d'insertion 1,5-CH de carbène²⁰⁵ mais dont la construction du squelette se base sur une réaction de Friedel Crafts selon Mori pour fermer le cycle B, en inversant quelques étapes et en modifiant le dérivé chloré vinylique précurseur du carbène qui est substitué par un groupe OTBS qui est bien adapté à l'étape d'insertion de carbène CH et limitant la réaction secondaire de réarrangement en acétylénique (observée lorsque R = H).²²⁴ Ce précurseur a été préparé à partir de l'aldéhyde **392** dérivés de la N-Boc L-proline²⁰⁵ qui est transformé en cétone **505** par réaction de Wittig. Le composé chloré **505** possédant un groupe protecteur TBS conduit, après exposition au lithio-triméthylsilyldiazométhane, au composé azaspiranique **507** avec un rendement de 74%. Après déprotection de l'alcool et oxydation avec le périodine de Dess-Martin, l'aldéhyde **509** est obtenu avec 85-91% de rendement. La décarbonylation avec le catalyseur de Wilkinson conduit à l'amine spirocyclique désirée **510** avec 93% de rendement. A cause de la racémisation aisée du centre quaternaire lors de la déprotection de l'azote en vue du couplage avec une unité aromatique, le composé **510** est époxydé par le diméthyldioxirane (DMDO) conduisant à l'époxyde **511** sous forme d'un seul diastéréoisomère, avec 48% de rendement.

L'époxyde **511** est converti en carbamates **512** et **513** par traitement avec un acide de Lewis (Ti(OⁱPr)₄, MeCN) avec un rendement de 30% et 61% respectivement. La transformation du carbamate **512** en tosylate correspondant **514**, qui est traité par le 1,8-diazabicycloundéc-7-ène (DBU) pour fournir le cyclopentène **515** par élimination du tosylate avec 84% de rendement. Finalement, l'hydrolyse du carbamate par la potasse aqueuse conduit à l'aminoalcool insaturé **516** avec un rendement quantitatif.

L'alkylation de **516** avec le nosylate **517** conduit à l'alcool **518** qui, de façon surprenante est facilement cyclisé en présence de tétrachlorure d'étain en l'intermédiaire de Mori **237**, pouvant conduire à la (-)-CET **1** dans les conditions de Mori¹⁸⁰ en 4 étapes et 17,4% de rendement, terminant une synthèse formelle en 21 étapes et 0,4% de rendement global. Ce résultat contraste avec celui de Mori qui observé qu'une telle cyclisation de Friedel Crafts du composé **379** (APP) ne conduit pas à l'intermédiaire **237** alors que Kuehne décrit la cyclisation d'un alcool-lactame analogue **224** mais sans préciser sa stéréochimie.^{177,180}

223 A. Hameed, A. J. Blake, C. J. Hayses, *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 8045-8048.

224 R. Knorr, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 3795-3849.

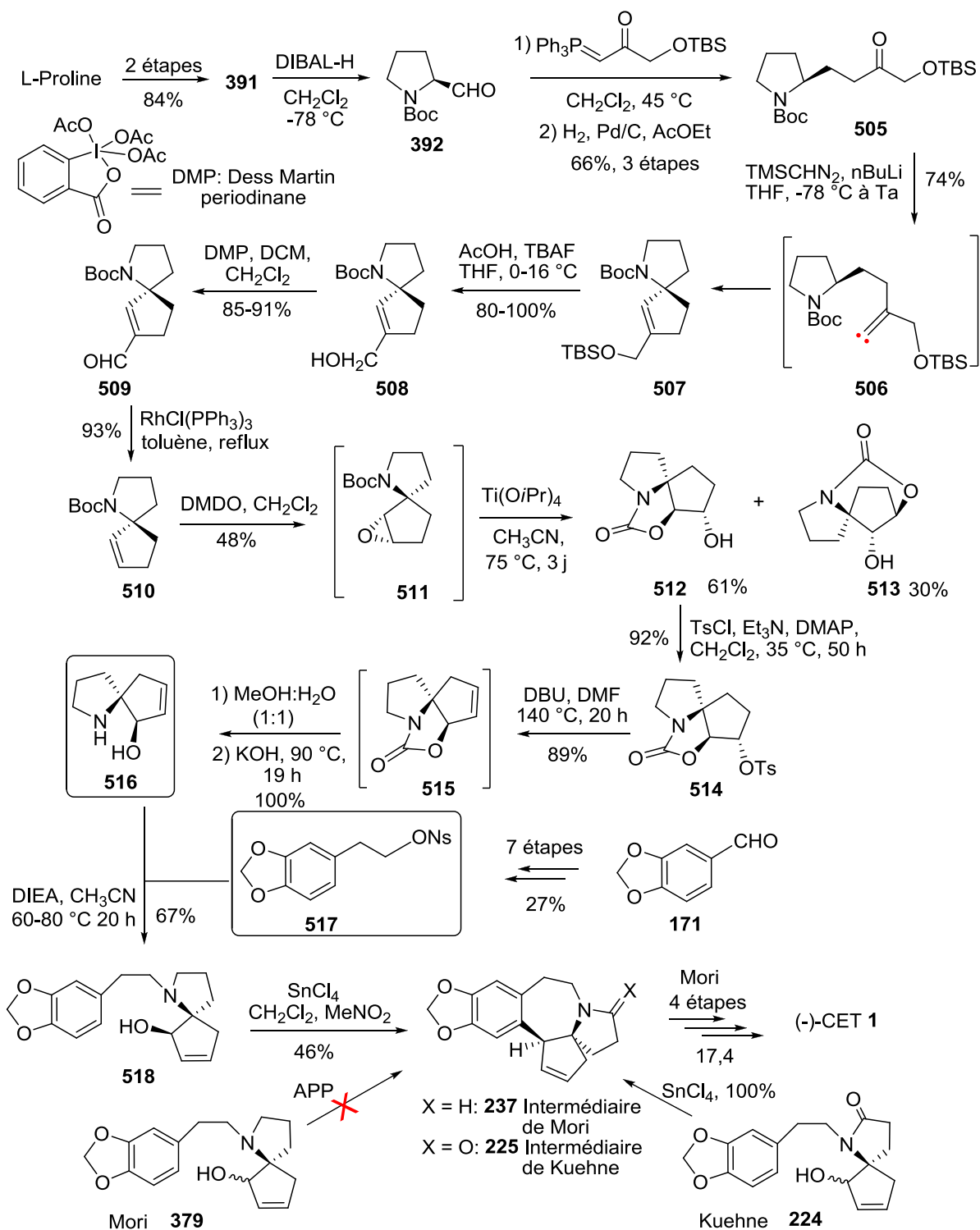


Schéma 54 : Deuxième synthèse de Hayes

p) Synthèse de Tu

En 2012, Tu cible pour sa synthèse formelle de (-)-CET **1** l'intermédiaire cyclisé de Mori **237** construit à partir d'une unité CD azaspiranique **256** qu'il obtient par une séquence clé d'hydroamination/réarrangement semi-pinacolique asymétrique (Schéma 55).²²⁵

Le triméthylsilylacétylène **519** est lithié par le *n*-butyllithium (*n*-BuLi) et l'anion est piégé par la tosylaziridine avant la déprotection du groupe TMS conduisant à la tosylamine homopropargylique **520** en un seul pot avec 63% de rendement. L'acétylénique pivot **521** est formé avec 75% de rendement par l'addition du lithien du composé **520** sur la cyclobutanone. La séquence clé d'hydroamination/réarrangement semi-pinacolique est réalisée en présence du phosphate d'argent (*S*)-**522**²²⁶ pour donner l'azaspirocycle **524** à l'échelle de 2 g avec 99% de rendement et un excès énantiomérique de 80%. Par la suite, ce composé **524** a été transformé en triflate **525** par énolisation avec l'hexaméthylidisilazamidure du lithium (LHMDS) et piégeage avec le *N*-phényl-bis(trifluorométhanesulfonimide) (PhNTf₂) qui est ensuite transformé en alcène **255** (intermédiaire de Soltz)¹⁸⁴ par réduction catalytique en présence de Pd(PPh₃)₂Cl₂ avec l'acide formique comme donneur d'hydrogène avec 94% de rendement pour les deux étapes. Après élimination du groupe tosyl, l'amination réductrice de l'amine libre azaspiranique **256** avec l'aldéhyde bromé **260**, préparé à partir de l'acide homopipéronylique **259** selon Stoltz,¹⁸⁴ par le cyanoborohydrure de sodium conduit à l'intermédiaire de Tietze **236** obtenu avec 63% de rendement. Enfin, l'intermédiaire pentacyclique de Mori **237** a été obtenu par réaction de Heck, dans les conditions de Tietze²⁰⁸ avec un rendement de 69% et un ee de 80% déterminé par chromatographie liquide à haute performance chirale (HPLC chirale). Tu réalise ainsi une synthèse formelle asymétrique de la (-)-CET **1** en 13 étapes avec un rendement global de 3,3% à partir du triméthylsilylacétylène **519**.

225 Q.-W. Zhang, K. Xiang, Y.-Q. Tu, S.-Y. Zhang, X.-M. Zhang, Y.-M. Zhao, T.-C. Zhang, *Chem. Asian J.*, **2012**, 7, 894-898.

226 Q. W. Zhang, C. A. Fan, H. J. Zhang, Y. Q. Tu, Y. M. Zhao, P. Gu, Z. M. Angew. Chem. Int. Ed., **2009**, 48, 8572.

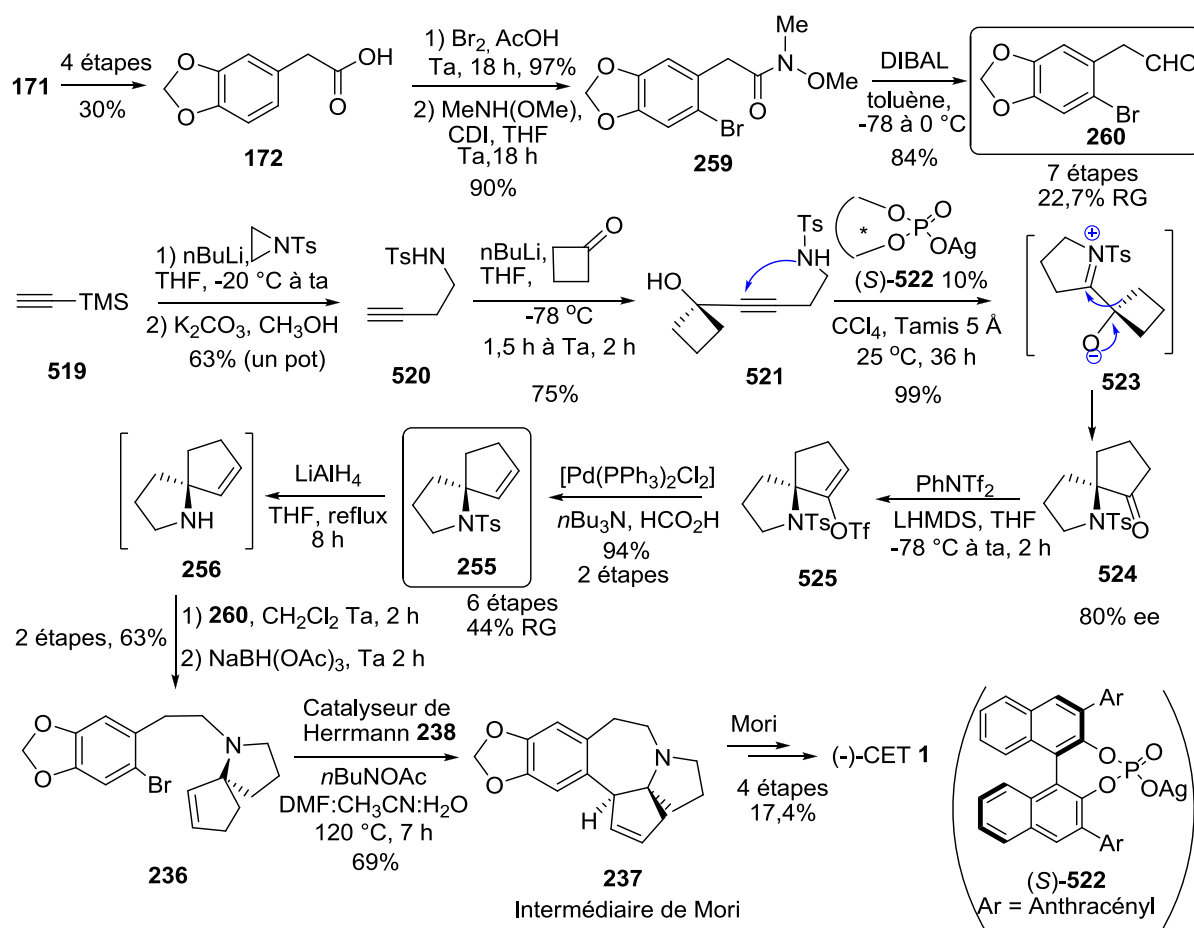


Schéma 55 : Synthèse de Tu

q) Synthèse de Renaud

Renaud et collaborateurs ont proposé deux voies de synthèses pour accéder à la (-)-CET 1.²²⁷ La première voie est basée sur l'intermédiaire azaspiranique **450** de Nagasaka²¹⁴ (Schéma 48, page 115). Au vu du faible contrôle de chiralité (1,2:1), une autre voie de synthèse basée sur l'intermédiaire de Mori **237** a été développée (Schéma 56).

La première voie commence par l'accès au dérivé méthylèncyclopentanol silylé **527** avec 96,5% d'excès énantiomérique préparé par acétylation énantiosélective du cyclopenténol racémique **526** en présence de lipase pancréatique de porc (PPL) selon Burgess et Jennings puis protection avec 33% de rendement (Schéma 54).²²⁸ La carboazidation de **527** a donné l'azide **528** avec un rendement de 89% sous forme d'un mélange 1,2:1 de diastéréoisomères (1*R*,2*S*): (1*S*,2*S*) séparés par chromatographie, le dérivé (1*R*,2*S*)-**528** désiré étant obtenu avec 59% de rendement. Par réduction catalytique, l'azide **528** conduit au lactame **529** avec un rendement de 75% qui, par désilylation suivie de l'oxydation de la fonction alcool au

227 M.G. Gonçalves-Martin, S. Sigmantas, P. Renaud, *Helv. Chim. Acta*, **2012**, 95, 2502-2514.

228 K. Burgess, L. Jennings, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 6129-6139.

chlorochromate de pyridinium, a mené à l'intermédiaire de Nagasaka (*R*)-**450** avec un rendement de 68%.

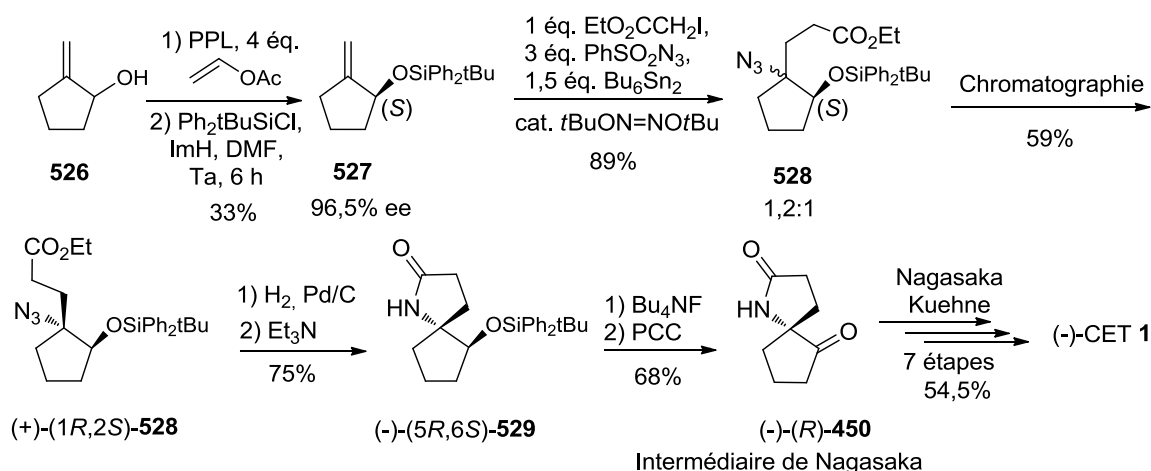
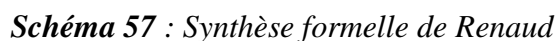


Schéma 56 : Synthèse formelle de Renaud

La deuxième voie commence également par un cyclopenténol (*S*)-**536** obtenu avec un ee de 96% et 64,5% de rendement global à partir de l'acide 4-penténoïque **530** par une séquence de 7 étapes dont une hydrogénation de l'ynone **532** selon Noyori avec le catalyseur au ruthénium (*S,S*)-**533** et une métathèse cyclisante d'un heptadiène 1,6 **535** avec 10% de catalyseur au ruthénium de Grubbs I (Schéma 57).²²⁹ La dihydroxylation stéréosélective du (*S*)-cyclopent-2-énol silylé **537** par le tétraoxyde d'osmium fournit le diol **538** avec 84% de rendement. Après protection du diol sous forme d'acétonide et déprotection de la fonction alcool puis son oxydation en cétone, la méthylation par réaction de Wittig fournit l'alcène **539** avec un rendement de 60%. La carboazidation de l'alcène **539** en présence de triéthylborane et d'air (sans dérivé de l'étain) conduit à l'azidoester **541** avec 76% de rendement et un excès diastéréoisomérique > 94% résultant du piégeage du radical intermédiaire **540** par l'azoture de 3-sulfonylpyridinium en *anti* du groupe acétonide. La réduction de la fonction azide de **541** par hydrogénation catalytique conduit directement au spirolactame **542** obtenu avec 95% de rendement. Cette séquence de 7 étapes pour former l'unité CD azaspiranique optiquement active **542** à partir de l'alcool allylique silylé (*S*)-**537** est efficace (35% de rendement global) et hautement stéréosélective.

229 (a) M. G. Gonçalves-Martin, S. Sigmantas, P. Renaud, *Helv. Chem. Acta*, **2012**, 95, 2502-2514. (b) M. G. Gonçalves-Martin, A. Saxer, P. Renaud, *Synlett*, **2009**, 2801-2.



230 E. J. Corey, P. B. Hopkins, *Tetrahedron Lett.*, **1982**, 23, 1979.

obtenu par Zhao et Mariano²¹⁸ (Schéma 51, p 131) et Suga et Yoshida¹⁸¹ (sous forme racémique (Schéma 21, p 94). Aucune racémisation n'est observée lors de cette séquence. Après réaction de Heck intramoléculaire selon Tietze et Schirock,²⁰⁸ l'intermédiaire de Mori (-)-**237** est obtenu avec 46% de rendement, permettant d'accéder à la (-)-CET **1** avec 0,9% de rendement en 25 étapes à partir d'acide 4-penténoïque **530**.

6) Conclusion

L'étude des nombreuses synthèses de la céphalotaxine publiées à ce jour permet de dresser un certain nombre de conclusions quant aux points-clé de sa structure et à la façon dont les chimistes ont surmonté les problèmes posés par sa synthèse.

La formation du cycle B reste souvent un point crucial dans la construction du squelette de la céphalotaxine. La déconnexion C₄-C₁₃ demeure de loin la plus employée (30 synthèses sur 40). Les réactions de cyclisation utilisées pour sa formation (substitutions électrophiles aromatiques, couplage organométalliques...) se font généralement avec de bons rendements, mais semblent sensibles aux intermédiaires de cyclisation et à la richesse électronique du noyau aromatique (*cf.* synthèse de Mori). Cette déconnexion est également extrêmement intéressante d'un point de vue stéréochimique puisque les réactions de cyclisation construisant la liaison C₄-C₁₃ fournissent en général la bonne configuration relative pour les atomes C₄ et C₅, évitant des séparations difficiles. Les autres déconnexions ne donnent pas toujours de si bons résultats, ainsi Fuchs qui utilise la déconnexion N₉-C₅ pour former le cycle B est obligé de séparer les intermédiaires **292a** et **292b** par HPLC car la réaction de Diels-Alder intramoléculaire n'est pas totalement stéréosélective (*cf.* Schéma 26, p 101).

La formation du système spirannique CD est également un point essentiel dans ces synthèses, en effet, le contrôle du centre C₅ en début de synthèse simplifie considérablement les stratégies stéréocontrôlées et permet une approche énantiosélective de la céphalotaxine par une synthèse asymétrique du système CD. Le contrôle successif du centre C₅ sur le centre C₄ puis du centre C₄ sur le centre C₃ facilitent ainsi l'obtention de céphalotaxine optiquement active. Cependant, les conditions opératoires utilisées après la synthèse du système spirannique doivent être choisies avec soin à cause du risque de racémisation de la céphalotaxine et de certains intermédiaires synthétiques par rupture de la liaison N₉-C₅ (*cf.* Mori, p 115).

Enfin, d'un point de vue industriel, le groupe Merck a repris la synthèse de Weinreb en série racémique en améliorant le rendement (11,7% en supprimant certaines étapes de purification). La céphalotaxine optiquement active, dans sa configuration naturelle, peut être

obtenue par dédoublement de la céphalotaxine racémique par l'acide tartrique. L'homoharringtonine de haute pureté utilisée pour les essais cliniques est obtenue par extraction (lots NCI) et par hémisynthèse (ssHHT) à partir de la céphalotaxine naturelle et purification par HPLC pour éliminer les impuretés et diastéréoisomères minoritaires.

B DESCRIPTION DES TRAVAUX

I. Introduction

1) Objectifs

L'homoharringtonine est une option de traitement notamment pour les leucémies résistantes au Gleevec mais sa production pose le problème de son extraction, de sa purification et de l'homogénéité des lots thérapeutiques. Pour y pallier, un grand pas en avant a été effectué par l'équipe de Robin qui a préparé et produit une HHT semisynthétique de haute pureté. Une autre avancée serait la production d'une HHT totalement synthétique, ce qui nécessite de développer une synthèse efficace de la céphalotaxine de haute pureté énantiomérique. Après une première vague de travaux synthétiques visant la CET, les travaux récemment publiés dans ce domaine montrent que cet objectif est toujours d'actualité.

Poursuivant les travaux du laboratoire visant la synthèse de la céphalotaxine et de ses esters actifs,²³¹ l'objectif de ce projet vise un accès rapide à ces alcaloïdes en commençant par développer une synthèse concise de céphalotaxine **1** à partir du safrol **547**,²³² un composé naturel abondant extrait de *Sassafras* (Schéma 58).

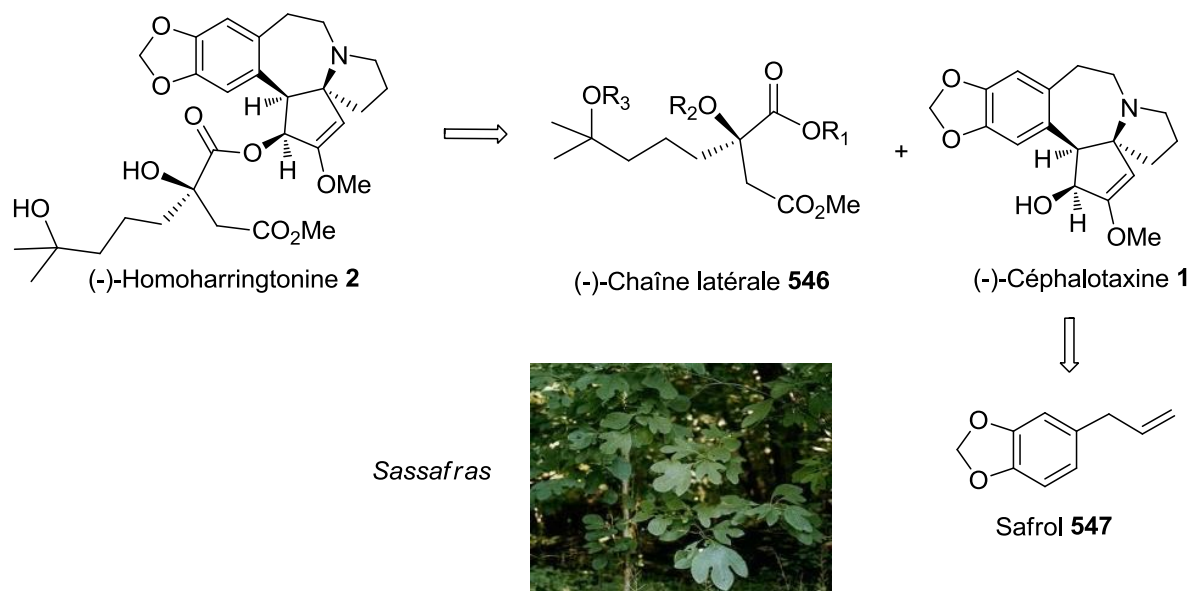


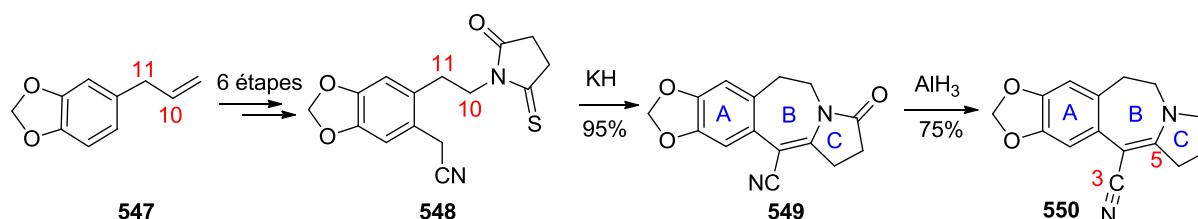
Schéma 58

231 (a) L. Keller, F. Dumas, J. d'Angelo, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1911-1913. (b) L. Keller, F. Dumas, J. d'Angelo, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2488-2497. (c) F. Dumas, J.-P. Robin, L. Keller, P. Bataille, J. d'Angelo, PCT FR01/04233, WO 2002055470 (Oncopharm SA-CNRS), 31/12/2001.

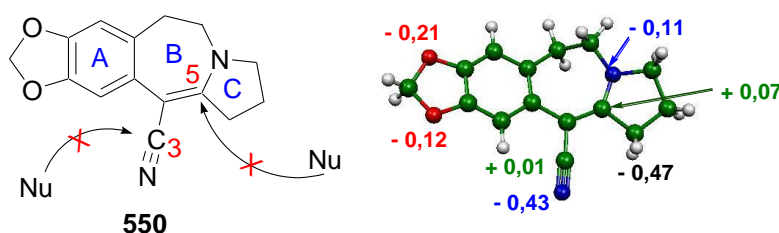
232 (a) E. R. de Oliveira, F. Dumas, J. d'Angelo, *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 3723-3726. (b) M. Pizzonero, L. Keller, F. Dumas, M. Ourevitch, G. Morgant, A. Spasojevic-de Bire, G. Bogdanovic, N. E. Ghermani, J. d'Angelo, *J. Org. Chem.*; 2004; 69, 4336-4350. (c) référence 211.

2) Résultats acquis: Synthèse du motif pyrrolobenzazépine ABC

Des travaux antérieurs du laboratoire ont porté sur une stratégie de synthèse de la céphalotaxine s'appuyant sur une déconnexion originale pour la formation du cycle B entre les carbones 4 et 5, selon une stratégie de type $A \rightarrow AC \rightarrow ABC \rightarrow ABCD$ (Schéma 59).^{232a,b} La synthèse du tétracycle **549** s'effectue en 7 étapes et 29% de rendement global à partir du safrol **547** dont la chaîne allyle apporte les futurs C₁₀ et C₁₁ de la céphalotaxine. La réaction de cyclisation anionique du monothioimide **548** formant le cycle B de la CET est très efficace. L'obtention du tétracycle **549** est donc aisée. Ces études ont permis une synthèse originale d'intermédiaires clé tétracycliques **548** et **549** préfigurant le système ABC de la CET **1** obtenus respectivement en 7 et 8 étapes à partir du safrol **547**.



Cependant aucune des unités tétracycliques **549** ou **550** n'a pu être transformée en vue de la formation du cycle D de la CET **1**.^{232b} En particulier, l'addition nucléophile de réactifs apportant les atomes de carbone C₁ et C₂ sur la fonction nitrile ou sur C₅ sont inopérantes, la charge partielle sur ces atomes du tétracycle **550** ayant été déterminée expérimentalement par diffraction des RX haute résolution comme étant nulle,^{231b} ce qui explique posteriori les échecs rencontrés (Figure 38).



Faisant suite à ces résultats expérimentaux, une stratégie alternative d'accès à la céphalotaxine basée sur cette nouvelle réaction de cyclisation de moniothioimide consiste à introduire les atomes de carbone C₁ et C₂ manquant avant la formation du cycle B.

3) Stratégie de synthèse

Une stratégie alternative repose sur donc l'élaboration d'un intermédiaire **552** qui comporte les fonctionnalités nécessaires à la formation de la CET **1**: la fonction monothioimide du composé **548** pour la cyclisation anionique, et un fragment correspondant aux quatre futurs atomes du cycle D (C₁ à C₄) portant 2 fonctions carbonyle en 3 et en 2 afin de permettre la formation ultérieure du cycle D fonctionnalisé régiosélectivement (Schéma 60). Dans sa première synthèse de la céphalotaxine, la cyclisation d'un intermédiaire **177**, analogue du lactame **551**, en déméthylcéphalotaxinone **35**, via l'énolate **554**, a été décrite par Weinreb au moyen de méthylate de magnésium avec un rendement de 60%.¹⁵⁹

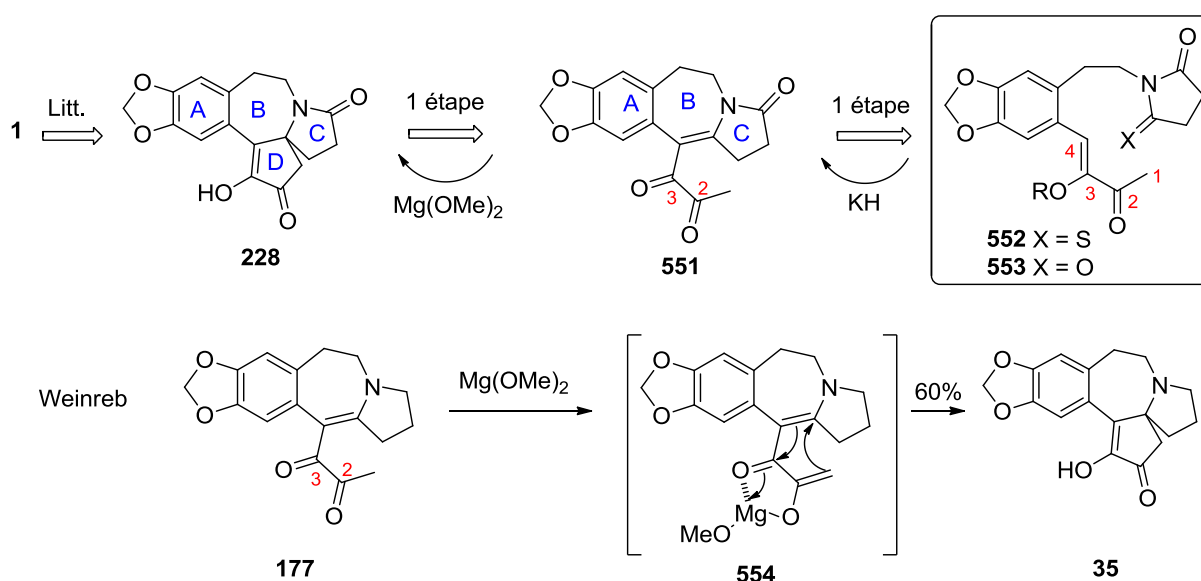


Schéma 60

L'intermédiaire **552** serait obtenu à partir de l'imide **553**, préparé par réaction de Heck²³³ à partir de l'oléfine α -substituée **556** et du dérivé AC **555** car il possède un halogène aromatique qui permet l'insertion du palladium (Schéma 61).

L'intermédiaire **552** devrait pouvoir être synthétisé à partir de trois fragments:

- le dérivé aromatique halogéné **558** qui sera synthétisé à partir du safrol **547**.
- le succinimide **559**.
- un ester ou éther d'énol **556** accessible en une étape à partir du biacétyle **557**.

Les deux premiers fragments A **558** et C **559** seraient couplés par substitution nucléophile (SN) ou par réaction de Mitsunobu²³⁴ pour conduire au dérivé aromatique

233 (a) R. F. Heck, *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90, 5518-5526. (b) Voir par exemple : R. K. Arvela, S. Pasquini, M. Larhed, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 6390-6396.

234 O. Mitsunobu, *Synthesis*, **1984**, 1-28.

halogéné **555**. Le produit AC **555** obtenu pourrait réagir avec le dérivé éther d'énol **556** par un couplage de Heck (Schéma 61). Pour la fonction monothioimide nécessaire à la cyclisation, une réaction de thionation par le réactif de Lawesson sera utilisée, en analogie avec les travaux antérieurs du laboratoire.

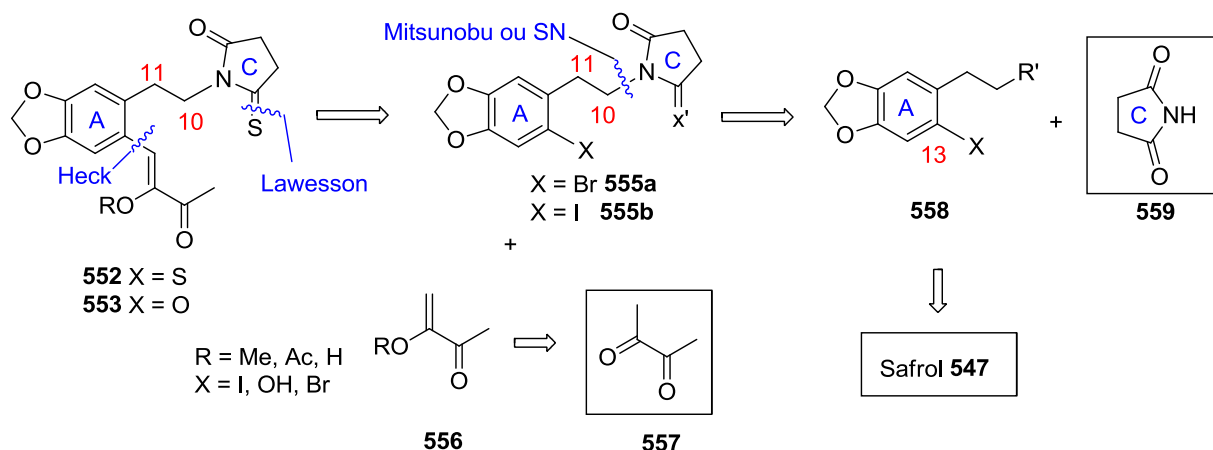


Schéma 61

Dans ce travail nous avons cherché à obtenir les composés nécessaires pour évaluer cette stratégie de synthèse, notamment l'unité AC **552**. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'influence du système catalytique de la réaction de Heck sur l'efficacité de la transformation afin de choisir des conditions susceptibles de conduire au précurseur imide **553** de notre intermédiaire de synthèse. Nous commençons donc par exposer un aperçu des données bibliographiques de cette réaction avant d'exposer notre stratégie et nos résultats.

II. Contexte scientifique

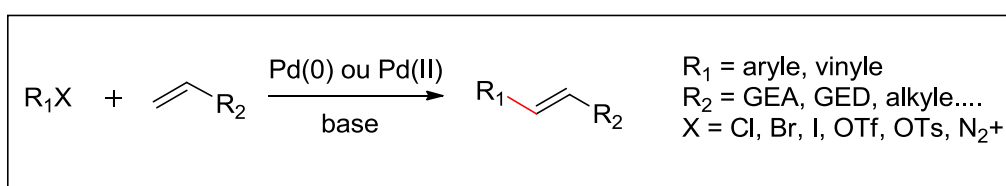
1) La réaction de Heck

a) Généralités

La formation de liaisons carbone-carbone est un processus fondamental en synthèse organique, depuis longtemps les chimistes organiciens sont intéressés à leur efficacité. Plus récente, la formation de liaisons carbone-carbone catalysée par un métal de transition qui permet le couplage croisé de substrats de façons qui auraient déjà été pensées impossibles a été mise au point dans les années 1970 et a représenté une étape importante en synthèse organique. La majeure partie de la recherche sur l'élaboration de stratégies de couplage carbone-carbone a été réalisée, et certains nouveaux défis dans ce domaine ont vu le jour à la fin du 20^{ème} et au début du 21^{ème} siècle. Une nouvelle mentalité du chimiste organicien met l'accent sur la conception des nouvelles méthodologies capables de rendre les transformations

chimiques déjà connues plus simples, plus rapides, moins chères, plus écologiques, plus générales et plus efficaces. En particulier, une attention croissante a été accordée à l'aspect «chimie verte» de ces processus, cette notion étant définie comme l'ensemble de principes qui réduisent ou éliminent l'utilisation ou la production de substances dangereuses.²³⁵

Les premiers exemples de réaction de Heck,^{233,236} définie comme le couplage d'un halogénure d'aryle ou de vinyle avec un alcène par catalyse au Pd(0), en présence d'une base, ont été rapportés de façon indépendante par Heck et Nolley,²³⁷ et Mizoroki et collaborateurs,²³⁸ dans le début des années 1970 (Schéma 62). Il est intéressant de noter que les premiers exemples de réaction de Heck n'utilisent pas de ligand.



Conditions de Heck²³⁷ : 10% mol Pd(OAc)₂, 1 équiv. Bu₃N, 100 °C, 68-81%

Condition de Mizoroki²³⁸ : 10% mol PdCl₂, 1,2 équiv. KOAc, MeOH, 120 °C, 74-97%

Schéma 62

Dans ce même article, Heck²³³ a montré également que le chlorure de benzyle **560** est un partenaire de la réaction avec l'acrylate de méthyle **561**, conduisant au mélange du produit de couplage attendu **562** (9%) et de **563** dans lequel la double liaison s'est conjuguée avec le noyau aromatique (67%) (Schéma 63).²³⁷

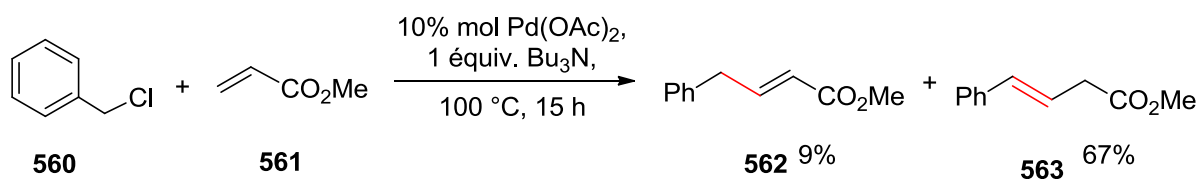


Schéma 63

Depuis lors, la réaction de Heck a acquis un intérêt synthétique de plus en plus grand parmi les chimistes et est reconnue aujourd'hui comme une réaction efficace de couplage carbone-carbone. Depuis sa découverte, il a été montré que cette méthodologie est très

235 F. Alonso, I. P. Beletskaya, M. Yus, *Tetrahedron*, **2005**, 61, 11771-11835.

236 O. Reiser, dans *Preparation of alkenes a practical approach*, J.M.J. Williams, Oxford University press: Oxford, **1996**, pp 176-184.

237 (a) R. F. Heck, J. P. Nolley, *J. Org. Chem.*, **1972**, 37, 2320. (b) R. F. Heck, *Org. React.*, **1982**, 27, 345-390.

238 T. Mizoroki, K. Mori, A. Ozaki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1971**, 44, 581.

versatile et un large éventail d'espèces aromatiques halogénées, triflates, tosylates et sels de diazonium²³⁹ peut être utilisé avec une gamme variée d'oléfines dans des conditions diverses.^{240,241,242,243} Enfin, un des avantages notables de la réaction de Heck est sa sélectivité *trans* qui s'explique par le mécanisme réactionnel.

Les principales étapes du mécanisme général et traditionnel de la réaction de Heck sont représentées dans le Schéma 64.

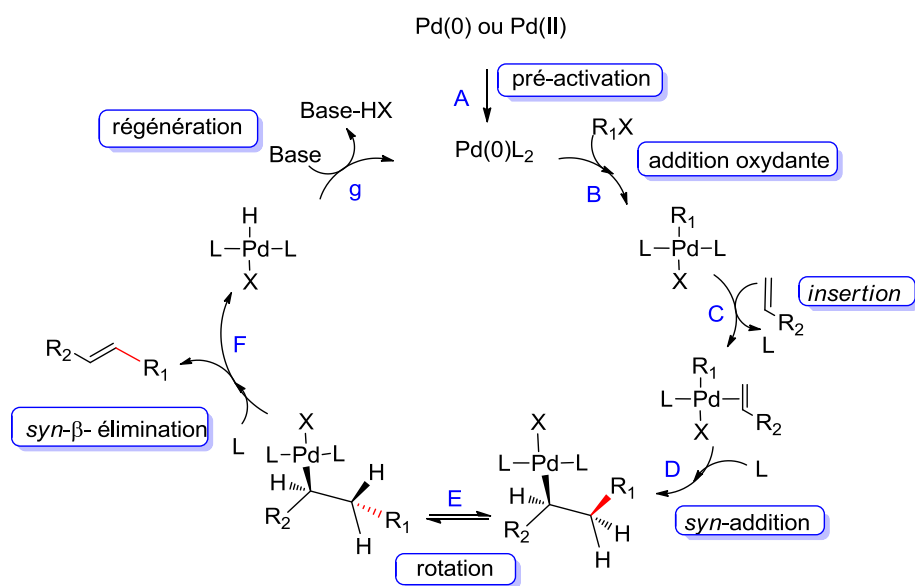


Schéma 64

a1) Génération du catalyseur

On représente usuellement l'espèce catalytique sous la forme $\text{Pd}(0)\text{L}_2$, où L peut désigner une molécule de solvant ou un ligand « classique » de type phosphine. Elle peut être générée aussi bien à partir de $\text{Pd}(0)$, l'espèce la plus fréquemment utilisée étant $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, que de $\text{Pd}(\text{II})$, souvent sous forme d'acétate ou de chlorure de palladium. Dans ce dernier cas, le $\text{Pd}(0)$ est généré *in situ* à partir d'une source de $\text{Pd}(\text{II})$ stable et disponible dans le commerce, en général en présence d'une phosphine, qui joue le rôle de réducteur.

239 E. W. Wermer M. S. Sigman, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 9692–9695.

240 M. Larhed, A. Hallberg, E. Negishi, In *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*, Ed. Wiley-Interscience: New York, **2002**, Vol. 1, p 1133.

241 (a) G. T. Crisp, *Chem. Soc. Rev.*, **1998**, 27, 427-436. (b) I. P. Beletskaya, A. V. Cheprakov, *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 3009-66.

242 N. J. Whitcombe, K. K. Hii, S. E. Gibson, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 7449-76.

243 H. Von Schenck, B. Åkermark, M. Svensson, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 3503-08.

a2) Formation de l'espèce organopalladiée

Sous la forme $\text{Pd}(0)\text{L}_2$, le palladium est riche en électrons, nucléophile, et possède des sites de coordination vacants. Il n'est dès lors pas surprenant qu'il réagisse avec des espèces électrophiles de type R-X *via* une addition oxydante. Dans la réaction de Heck, elle constitue l'étape cinétiquement limitante (Schéma 65).

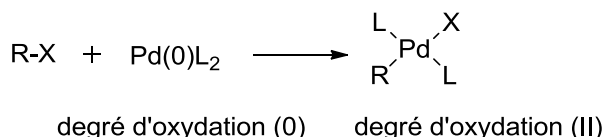


Schéma 65: Formation de l'espèce organopalladiée par addition oxydante

Ces réactions sont limitées aux composés R-X de type vinyle, aryle, et benzyle, car si le groupement R présente un hydrogène en β du palladium, après l'addition oxydante, le complexe n'est pas stable et conduit au produit de β -élimination.

Pour ce qui est du groupement X , il a été montré l'ordre de réactivité suivant: $\text{I} > \text{Br} \gg \text{Cl}$. Toutefois, de nouveaux catalyseurs qui permettent d'utiliser les dérivés chlorés, beaucoup moins onéreux que leurs analogues iodés et bromés, ont été développés. Ainsi, pour les dérivés aromatiques chlorés, Fu préconise l'utilisation du système catalytique $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, $\text{P}(\text{t-Bu})_3$ et Cs_2CO_3 dans le dioxane (Schéma 66).²⁴⁴ Le dérivé chloré aromatique **564** est ainsi couplé efficacement à l'acrylate de méthyle **561** conduisant au *p*-méthoxycinnamate **565** avec 82% de rendement.

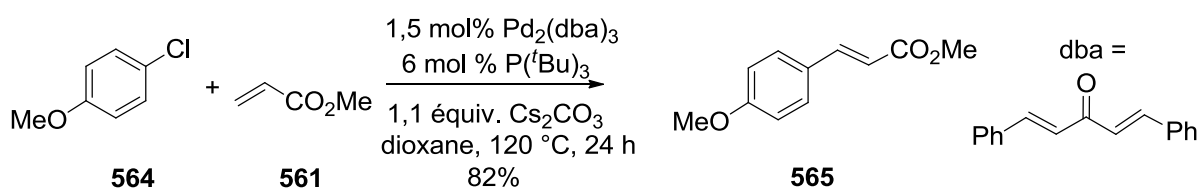


Schéma 66

a3) Transformation de l'espèce organopalladiée

La transformation de l'espèce organopalladiée commence par la coordination de l'oléfine, qui s'accompagne inévitablement de la perte d'un ligand. S'en suit la *syn*-insertion qui conduit à une espèce σ -alkyl palladium instable, qui subit une *syn*- β -élimination formant le produit *trans* (Schéma 67).

244 A. F. Littke, G. C. Fu, *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 10-11.

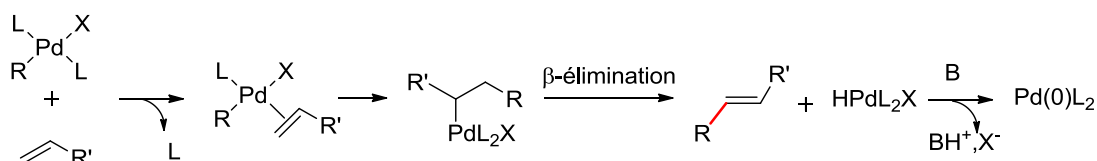


Schéma 67: Etapes d'insertion et de β -élimination

Deux mécanismes sont envisageables, selon que lors de l'insertion le ligand qui quitte le complexe pour permettre la coordination de l'oléfine est un ligand neutre L (Schéma 68, (a)) ou un groupe partant X^- (Schéma 68, (b)). Dans le premier cas, le complexe généré est neutre. C'est le mécanisme généralement admis pour les réactions de Heck «classiques» qui mettent en jeu des halogénures ($X = I, Br$, éventuellement Cl). Dans le second cas, le complexe est cationique. Ce type de mécanisme est prépondérant lorsque l'on utilise des triflates ($X = OTf$), la liaison $Pd-X$ étant alors nettement plus labile, ou lorsque l'additif est un sel d'argent ou encore avec des ligands phosphine bidentates.²⁴⁵

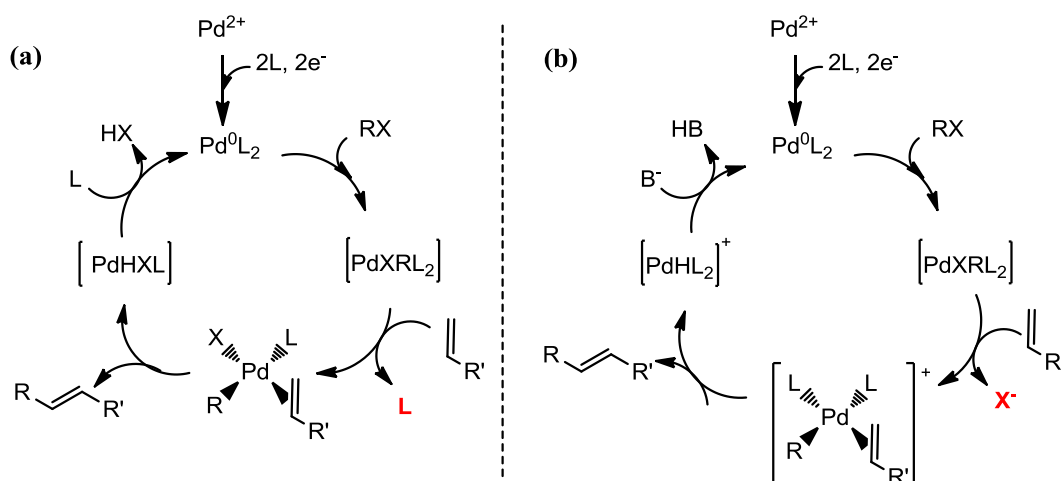


Schéma 68: Mécanismes de la réaction de Heck neutre (a) et cationique (b)

La dernière étape du cycle catalytique consiste en la libération du produit par *syn*- β -élimination, qui s'accompagne de la régénération de l'espèce catalytique par élimination réductrice sur le complexe $HPdXL_2$ à l'aide d'une base (Schéma 68).

b) Contrôle de la régiosélectivité

Le contrôle de la régiosélectivité est particulièrement intéressant d'un point de vue académique. Il est affecté par une variété des facteurs différents tels que des effets stériques,

²⁴⁵ R. J. Deeth, A. Smith, J. M. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 7144-7151.

la nature électronique des oléfines et leurs homologues aryle, le système catalytique et le solvant utilisé dans la réaction.^{246,247,248} Il est aujourd'hui largement reconnu que les oléfines pauvres en électrons tels que les acrylates et acrylonitriles donnent généralement des produits de couplage terminal (souvent mentionnés comme les β -produits), tandis que les oléfines riches en électrons ont tendance à donner les mélanges de couplage α -interne et des produits β -terminaux en conditions standard de réaction de Heck (Schéma 69).²⁴⁶

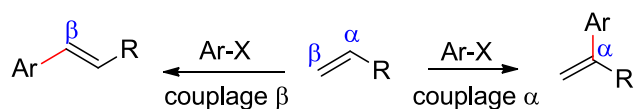
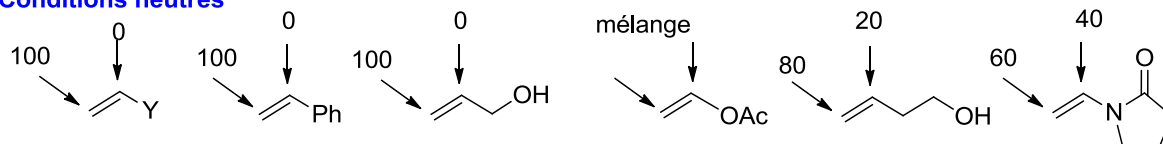


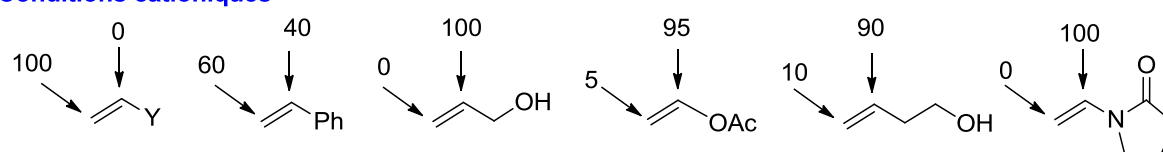
Schéma 69

Selon le mécanisme « neutre » ou « cationique » de la réaction, la régiosélectivité peut varier. Avec des complexes de palladium neutres, la régiosélectivité est principalement gouvernée par des effets stériques (Figure 39). Avec des complexes de palladium cationiques, la régiosélectivité dépend des effets électroniques. Un complexe de palladium cationique augmente la polarisation de l'alcène favorisant le transfert du groupe aryle ou vinyle sur le site de plus faible densité électronique.²⁴⁹

Conditions neutres



Conditions cationiques



Y = CO₂R, CN, CONH₂

Figure 39

La vitesse de réaction et la régiosélectivité sont sensibles à l'encombrement stérique de la double liaison C=C de l'espèce vinylique. Pour des halogénés aromatiques simples

246 H. Von Schenck, B. Åkermærk, M. Svensson, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 3503-08.

247 R. J. Deeth, A. Smith, J. M. Brown, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 7144-7151.

248 M. M. S. Andappan, P. Nilsson, H. von Schenck, M. Larhed, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 5212-18.

249 (a) W. Cabri, I. Candiani, A. Bedeschi, S. Penco, R. Santi, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 1481-1486. (b) W. Cabri, I. Candiani, *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 2-7.

réagissant avec des alcènes, la vitesse de réaction (k_{rel}) en fonction de la substitution de l'alcène varie dans l'ordre suivant (Figure 40):

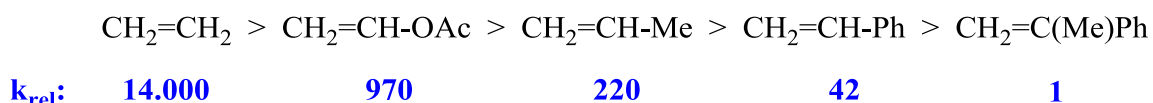


Figure 40

Nous souhaitons obtenir un produit de couplage β -terminal, ce qui doit être le cas avec un acrylate. L'oléfine **556** est à la fois porteuse d'un groupement attracteur (cétone) et d'un groupement donneur (alkoxy, cependant désactivé par l'acétate), le problème de la régiosélectivité ne peut être rencontré, aucun hydrogène n'étant présent sur la position α , le choix du système catalytique sera néanmoins important pour le succès de cette réaction dans laquelle l'encombrement stérique est important et le noyau aromatique est désactivé par le substituant méthylènedioxy (Schéma 70).

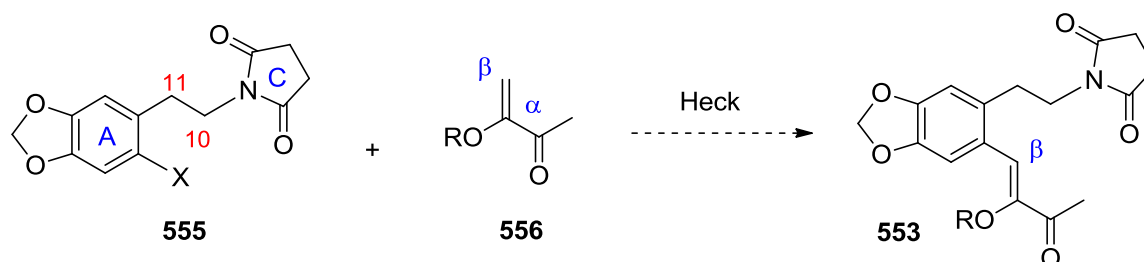


Schéma 70

En vue de la mise au point de la réaction de couplage de notre unité aromatique **555** avec les oléfines **556**, nous avons sélectionné un aperçu des très nombreuses conditions réactionnelles développées pour la réaction de Heck et nous présentons ici quelques développements récents de cette réaction.

c) Développements récents

c1) Catalyseurs

Nombre de chercheurs ont voulu préparer des catalyseurs bien définis afin d'éviter les problèmes de reproductibilité liés à l'utilisation de pré-catalyseurs et de ligands divers. De

plus, la recherche de catalyseurs sans phosphines qui sont réputées toxiques et chères²⁵⁰ a reçu un intérêt croissant ces dernières années. Ainsi, des catalyseurs assez sophistiqués ont été développés, par exemple des dérivés de type Pd(II)-carbènes *N*-hétérocycliques (NHC) qui sont souvent stables à l'air et à l'humidité et peuvent être utilisés facilement. Les carbènes hétérocycliques qui sont stabilisés par un hétéroatome ont eux aussi attiré l'attention. Ils sont appelés « carbènes anormaux » ou carbènes mésoioniques (MIC). Ces triazolyldènes ont rapidement émergé comme ligands de métaux de transition.²⁵¹

Albrecht et collaborateurs ont montré que les ligands triazole MIC sont facilement accessibles par chimie click (cycloaddition [2 + 3] régiosélective d'alcynes et d'azides) qui, suivie de la quaternarisation d'un atome d'azote par l'iodure de méthyle puis de la métallation par l'oxyde d'argent et enfin par une transmétallation avec le chlorure de palladium dans la 3-chloropyridine à 100 °C fournissent les complexes MIC-PEPPSI (**P**yridine-**E**nhanced **P**recatalyst **P**reparation, **S**tabilisation, and **I**nitiation) correspondants **566** (Schéma 71).^{252,253}

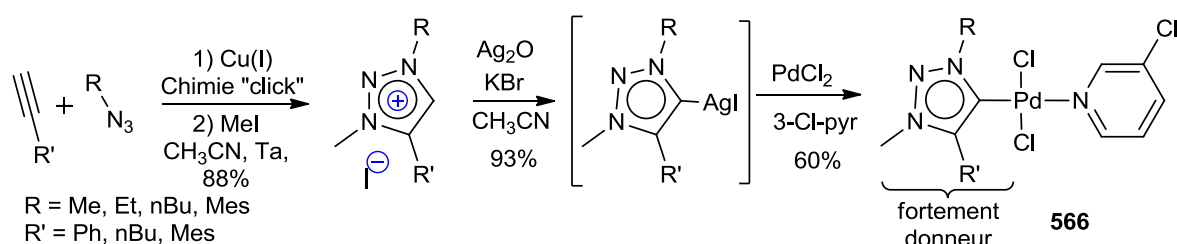


Schéma 71: Synthèse de complexes **566** MIC-PEPPSI selon Albrecht

Des complexes triazole MIC-PEPPSI **567** et **568** portant des substituants 2,6-diisopropylphényle (Dipp) décrits par Crudden en 2012 ont été obtenus selon un procédé analogue par réaction des sels de triazolium MIC₁ et MIC₂ en léger excès directement avec le chlorure de palladium dans la pyridine en présence de base (Schéma 72).²⁵⁴

250 (a) J. Dupont, R. F. De Souza, P. A. Saurez, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 3667-91. (b) T. Welton, *Chem. Rev.* **1999**, 99, 2071-84. (c) M. J. Earle, K. R. Seddon, *Pure App. Chem.* **2000**, 72, 1391-98. (d) M. R. Gyton, M. L. Cole, J. B. Harper, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 9200-02.

251 (a) C. Valente, S. Çalimsiz, K. H. Hoi, D. Mallik, M. Sayah, M. Organ, G. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., **2012**, 51, 3314-3332. (b) T. Nakamura, K. Ogata, S.-i. Fukuzawa, *Chem. Lett.* **2010**, 39, 920-922. (c) T. Terashima, S. Inomata, K. Ogata, S.-i. Fukuzawa, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, 2012, 1387-1393.

252 P. Mathew, A. Neels, M. Albrecht, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, 130, 13534-13535.

253 D. Canseco-Gonzalez, A. Gniewek, M. Szulmanowicz, H. Muller- Bunz, A. M. Trzeciak, M. Albrecht, *Chem. Eur. J.*, **2012**, 18, 6055-6062.

254 E. C. Keske, O. V. Zenkina, R. Wang, C. M. Crudden, *Organometallics*, **2012**, 31, 6215-6221.

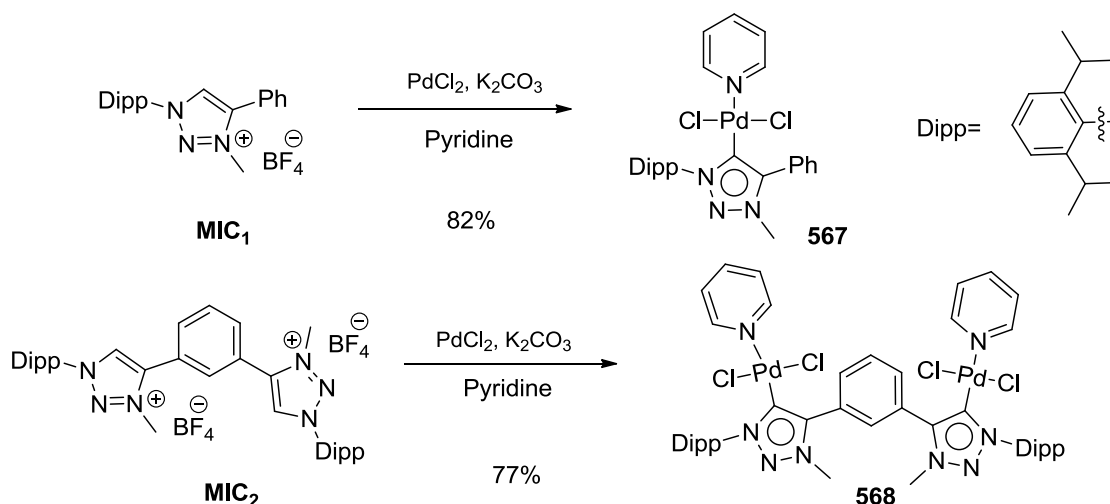


Schéma 72: Synthèse de complexe Bis-(MIC) **567** et **568** de Crudden²⁵⁴

L'utilisation de ces nouveaux catalyseurs **567** et **568** de type MIC-PEPPSI dans la réaction de Mizoroki-Heck d'un iodure d'aryle **569** avec l'acrylate de méthyle **561** en utilisant le formiate de sodium comme agent réducteur a fourni le produit de couplage **565** en 2 h à 80 °C avec un excellent rendement (Schéma 73).²⁵⁴

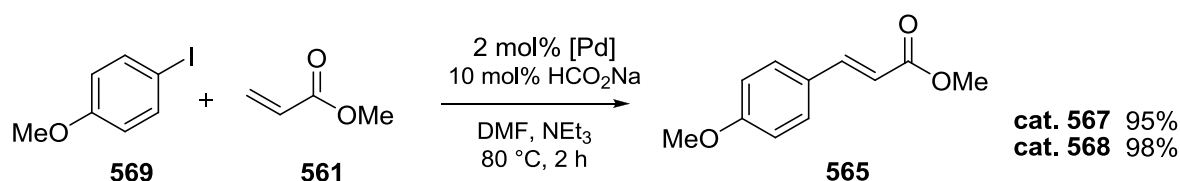


Schéma 73

En 2008, Organ a développé une méthode de couplage de bromoalcènes **570** et de 2-bromoanilines **571** assistée par micro-ondes.²⁵⁵ Le processus a lieu en deux étapes, par amination de Buchwald-Hartwig suivie d'une réaction de Heck intramoléculaire. Ce processus est effectué en flux dans un tube capillaire en métal (1180 microns de diamètre interne) dont la paroi interne est tapissée d'un film très poreux de palladium en présence de catalyseur Pd.PEPPSI-IPr **573**, ce qui permet d'obtenir les indoles **572a-c** avec 48-62% de rendement (Schéma 74).

²⁵⁵ G. Shore, S. Morin, D. Mallik, M. G. Organ, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1351-1356.

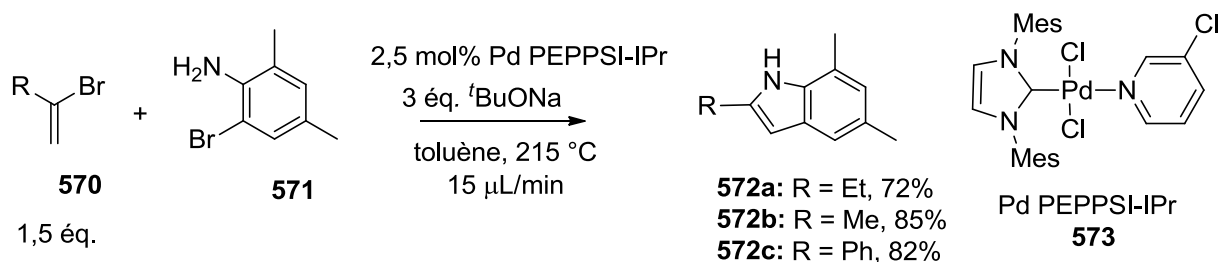


Schéma 74

En 2011, Fukuzawa et collaborateurs ont montré que des catalyseurs similaires de type *bis*-(MIC) $(\text{TMes})_2\text{PdCl}_2$ (bis-1,4-dimésityl-1,2,3-triazol-5-ylidène palladium) **574** nécessitent une température de réaction élevée (150 °C) pour être efficaces dans la réaction de couplage de bromoanisoles **575** avec l'acrylate de *tert*-butyle **576** fournissant les produits de Heck **577** avec un rendement de 88% pour l'isomère *para* et de 51% pour l'isomère *ortho* (Schéma 75).²⁵⁶

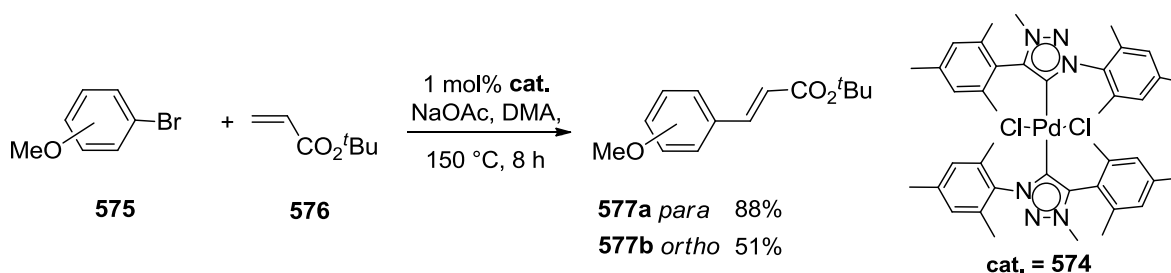


Schéma 75: Réaction de Mizoroki-Heck avec le complexe de Fukuzawa bis-(MIC) 574

En 2011, Singh a développé un catalyseur $\text{Pd}(\text{L-Proline})_2$ stable à l'air et à l'eau, préparé très facilement à partir d'acétate de palladium et de *L*-proline qui est efficace à 1 mol % pour le couplage de Heck d'halogénures aryliques avec des acrylates dans l'eau en présence d'un équivalent de bromure de tétrabutylammonium et sous irradiation micro-onde (Schéma 76).²⁵⁷ Ce procédé efficace et simple de couplage sans phosphine permet d'accéder à une variété de produits de couplage de Heck.

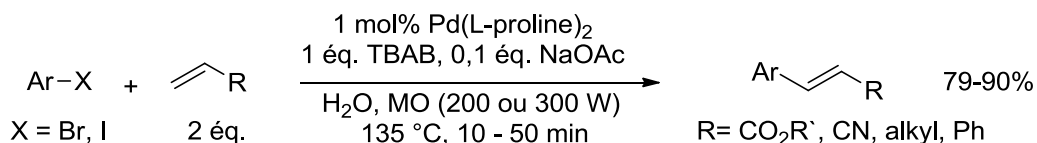


Schéma 76

256 S. Inomata, H. Hiroki, T. Terashima, K. Ogata, S. i. Fukuzawa, *Tetrahedron*, **2011**, 67, 7263-7267.

257 B. K. Allam, K. N. Singh, *Synthesis*, **2011**, 1125-1131.

c2) Ligands

Les phosphines hétérocycliques ont été utilisées dans des réactions de couplage depuis la fin des années 1980. En 1988, Farina et collaborateurs ont montré que la tri-2-furylphosphine PFu₃ **578** et la tri-2-thiénylphosphine PTh₃ **579** sont des ligands très efficaces pour remplacer la triphénylphosphine avec le palladium dans la réaction de couplage de Stille (Schéma 77).²⁵⁸ La synthèse de nombreux ligands hétérocycliques a depuis lors été un domaine très travaillé y compris pour la réaction de Heck.²⁵⁹

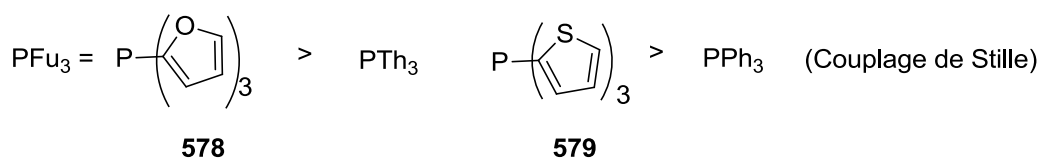


Schéma 77

En 2009, Liu et collaborateurs ont montré que des sels d'imidazolium fonctionnalisés **580** et **581**, permettent d'obtenir le produit de couplage de Heck de l'iodobenzène avec l'acrylate d'éthyle **582**, le cinnamate d'éthyle **583**, par catalyse au chlorure de palladium en 2 h à 150 °C avec 89% et 99% de rendement, respectivement (Schéma 78).²⁶⁰ Ces ligands hybrides P,N- sous forme de liquide ionique **580** ou **581** améliorent la tolérance à l'oxydation et la stabilité du complexe au palladium pour son recyclage.

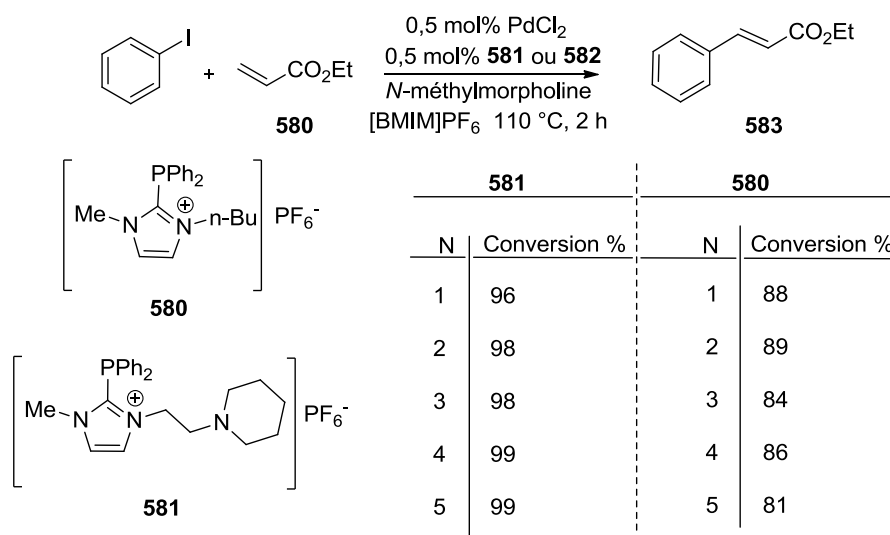


Schéma 78

258 (a) V. Farina, S. R. Baker, D. A. Benigni, C. Jr. Sapino, *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 5739-42. (b) V. Farina, B. Krishnan, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 9585-95.

259 W. Shun Man, S. Chau Ming, Kwong Fuk Yee, *Synlett*, **2012**, 23, 1132-1153.

260 Q-X. Wan, Y. Liu, Y-Q. Cai, *Catal. Lett.*, **2009**, 127, 386-91.

En 2010, Beller et ses collaborateurs ont mis au point la première réaction de Heck carbonylative en présence de monoxyde de carbone catalysée par le palladium d'halogénures d'aryle avec des oléfines pour laquelle ils ont évalué l'efficacité de nombreux ligands hétérocycliques. Le système catalytique PdCl₂/586 a permis la synthèse efficace de cétones α,β-insaturées, comme la chalcone 585 obtenue avec 84% de rendement (Schéma 79).²⁶¹

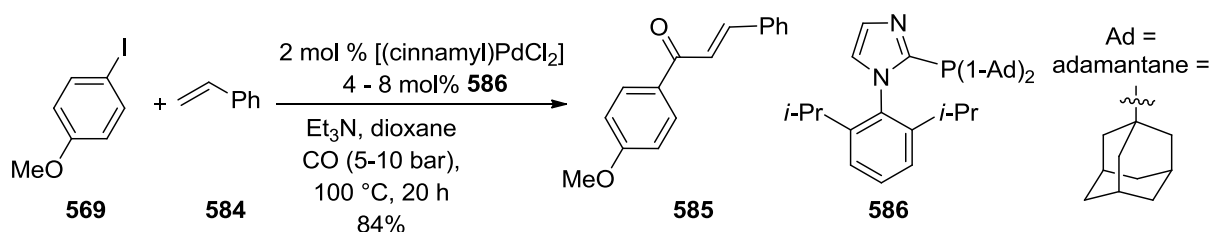


Schéma 79

Les ligands de type phosphine sont souvent sensibles à l'air, toxiques et assez chers. Pour éviter cela, Jincheng et collaborateurs ont développé des nouvelles conditions de réaction de Heck en présence d'acétate de palladium, en l'absence de ligand dans le fluorure de tétrabutylammonium (TBAF, 4 g/mmol) avec une efficacité élevée. La réaction de couplage catalysée par le palladium est effectuée avec succès sans phosphine, les produits de couplage ayant été obtenus avec de bons rendements à partir d'halogénures et d'oléfines variés, y compris des acrylates, l'acide acrylique, des styrènes et acrylamides, et le système catalytique est réutilisable à l'air (Schéma 80).²⁶²

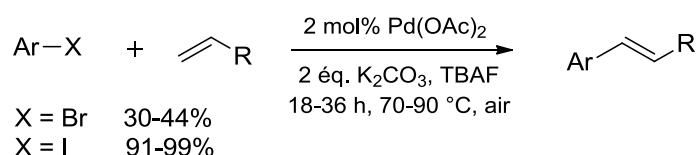


Schéma 80

c3) Milieux éocompatibles

Dans le contexte de la chimie verte et durable, l'effort de remplacer des solvants organiques volatiles dans la catalyse organométallique par des solvants alternatifs plus pratiques et écologiques a été entrepris.²³⁵

261 X-F. Wu, H. Neumann, A. Spannenberg, T. Schulz, H. Jiao, M. Beller, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132, 14596-602.

262 S. Peng, Q. Xiaoming, L. Tingyi, Z. Yan, Y. Hailong, X. Zeyong, M. Jincheng, *Synlett*, **2012**, 23, 150-154.

Ces dernières décennies, l'utilisation de l'eau comme solvant de réaction ou cosolvant a reçu beaucoup d'attention en chimie organique de synthèse.²⁶³ De fait, l'eau est le solvant «nature» par excellence et, par conséquent, son utilisation en chimie peut être considérée comme biomimétique et biocompatible.²⁶⁴ Plusieurs raisons conduisent à remplacer les solvants organiques classiques par l'eau, comme le coût, la sécurité et des préoccupations environnementales. En raison de sa nature polaire, c'est un excellent solvant, particulièrement adapté pour la synthèse organique assistée par micro-ondes.

Beletskaya a réalisé la réaction de Heck dans l'eau (Schéma 81),²⁶⁵ des dérivés iodés **587a-d** ayant des fonctions acide carboxylique ou phénol, qui ont été couplés efficacement à l'acrylonitrile **588** conduisant aux produits de couplage **589** avec 87-94% de rendement, à une température modérée (50-60 °C). En utilisant de l'acétate de potassium comme base, la réaction devient deux fois plus rapide.

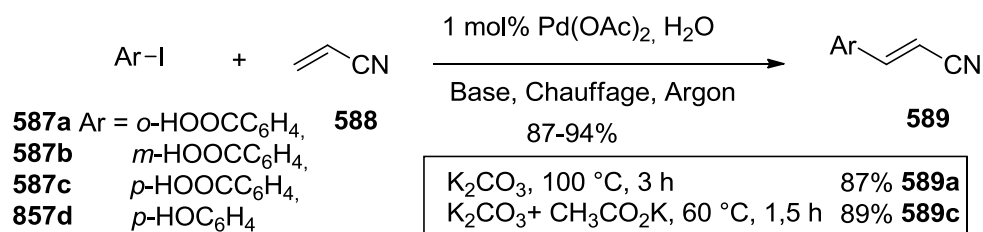


Schéma 81

Le principal obstacle à l'utilisation de l'eau comme solvant de réaction est la solubilité négligeable de la plupart des composés organiques dans l'eau. Ce problème peut être résolu en utilisant des solvants organiques miscibles à l'eau ou des agents de transfert de phase. En particulier, les sels de tétraalkylammonium améliorent la réactivité et la sélectivité de réactions de Heck inter- et intramoléculaires. De nombreux exemples de réaction par transfert de phases solide-liquide ont été décrits, et l'effet bénéfique de sels d'ammonium quaternaires a été étudié en détail et démontré par Jeffery.²⁶⁶ Elle a décrit l'influence de sels de tétrabutylammonium sur une réaction modèle entre l'iodobenzène et l'acrylate de méthyle **561**, en présence de Pd(OAc)₂ avec ou sans phosphine et a démontré que l'utilisation de

263 D. A. Alonso, C. Nájera, in: *Science of Synthesis. Water in Organic Synthesis*, Vol. 2011/7, (Ed. S. Kobayashi), George Thieme Verlag, Stuttgart, **2012**, p 535. ISBN: 978-3-13-169351-8.

264 (a) C. J. Li, T. H. Chan, *Organic Reactions in Aqueous Media*, Wiley, New York, **1997**. (b) P. A. Grieco, Ed. Blackie Academic and Professional: London, **1998**.

265 N.A. Bumagin, P.G. More, I.P. Beletskaya, *J.Org. Chem.*, **1989**, 371, 397-401.

266 (a) T. Jeffery, *Tetrahedron Lett.*, **1985**, 26, 2667-2670. (b) T. Jeffery, *Synthesis*, **1987**, 70-71.

ligand phosphine dans ces réactions n'est pas utile (Schéma 82).²⁶⁷. Bien que des quantités catalytiques de sel de tétrabutylammonium peuvent être bénéfiques, la vitesse de la réaction s'est avérée être linéairement proportionnelle à la quantité de sel et généralement, 1 à 2 équivalents de d'ammonium quaternaire sont utilisés. Cependant, la présence d'eau dans le milieu est nécessaire pour assurer l'efficacité de la réaction, le cinnamate de méthyle **590** étant obtenu avec 92% de rendement dans ces conditions.²⁶⁸

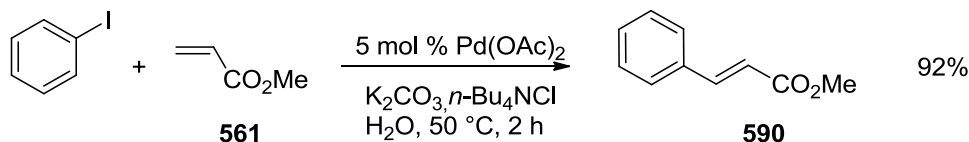


Schéma 82

Malgré ses avantages, la catalyse homogène présente l'inconvénient majeur de la séparation du catalyseur pour sa réutilisation. La catalyse hétérogène permet de remédier à cet inconvénient. Celle réalisée dans l'eau pure (moins de 5% d'additifs) a connu un développement ces dernières années.²⁶⁹ Des catalyseurs et ligands supportés ont permis de réaliser de nombreux couplages. La plupart a été réalisé avec des iodés aryliques. En 2009, Wan et collaborateurs ont montré que des catalyseurs hétérogènes au palladium supporté sur nanocomposites mésoporeux silice-charbon (Pd/MSC) appliqués au couplage de Heck du chlorobenzène avec le styrène dans l'eau sans ajout d'agent de transfert de phase conduit quantitativement et avec une sélectivité totale au *trans*-stilbene **591** en 24 h en présence de Na_2CO_3 à 100 °C (Schéma 83).²⁷⁰ Ce catalyseur hétérogène est stable et recyclable plus de vingt fois sans perte d'activité.

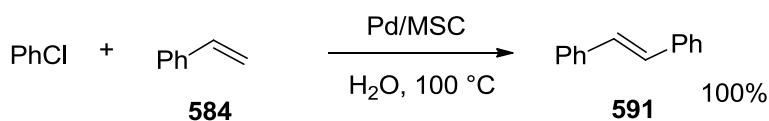


Schéma 83

267 T. Jeffery, *Tetrahedron*, **1996**, 52, 10113-10130.

268 T. Jeffery, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 4103-4106.

269 M. Lamblin, L. Nassar-Hardy, J.-C. Hierso, E. Fouquet, F.-X. Felpin, *Adv. Synth. Cat.*, **2010**, 352, 33-79.

270 Y. Wan, H. Wang, Q. Zhao, M. Klingsted, O. Terasaki, D. Zhao, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 4541-4550.

En 2009, le groupe de Firouzabadi a développé une réaction efficace de Mizoroki-Heck dans l'eau à l'aide d'un complexe de palladium hétérogène.²⁷¹ L'utilisation du 2-aminophényldiphénylphosphinite **592**, un ligand stable à l'air et à l'eau, ainsi que de l'acétate de palladium a généré un complexe insoluble Pd(0)L₂ qui catalyse la réaction d'halogénures d'aryles et divers alcènes dans de l'eau et à l'air à 80 ou 95 °C (Schéma 84).²⁷²

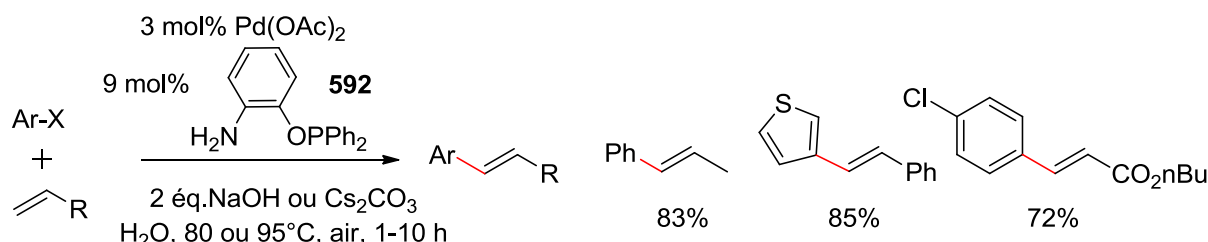


Schéma 84

Enfin, les réactions sans solvant organique classique rendent les processus de synthèse plus simples et économes en énergie et préviennent de la toxicité et des dangers des déchets de solvants organiques volatiles (COV). Par exemple, en 2012, l'équipe de Lamaty a développé une procédure Mizoroki-Heck dans un broyeur à billes dans des conditions douces (30 Hz, 1 h) sans solvant COV et sans ligand. Des rendements quantitatifs en produit **593** ont été obtenus par couplage de l'acrylate de *tert*-butyle **576** en utilisant le polymère PEG-2000-OH (Schéma 85).²⁷³

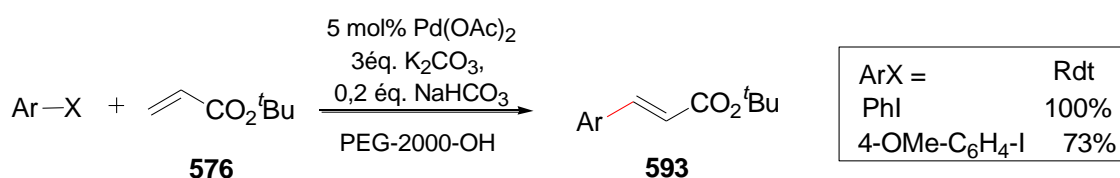


Schéma 85

Un protocole synthétique pour la réaction de Heck d'une variété d'adduits de Baylis Hillman dont **594** avec des iodobenzènes a été développée par Yoon, à l'aide de palladium sur charbon et de triéthylamine à 100 °C, sans additif ni solvant. Les α -benzyl- β -cétoesters correspondants, par exemple **596**, ont été obtenus avec d'excellents rendements (Schéma 86).²⁷⁴

271 H. Firouzabadi, N. Iranpoor, M. Gholinejad, *Tetrahedron*, **2009**, 65, 7079-84.

272 M-O. Simon, C-J. Li, *Chem. Soc. Rev.*, **2012**, 41, 1415-1427.

273 V. Declerck, E. Colacino, X. Bantreil, J. Martinez, F. Lamaty, *Chem. Commun.*, **2012**, 48, 11778-11780.

274 H-S. Kim, S-J. Lee, B. Choi, C. M. Yoon, *Synthesis*, **2012**, 44, 3161-3164.

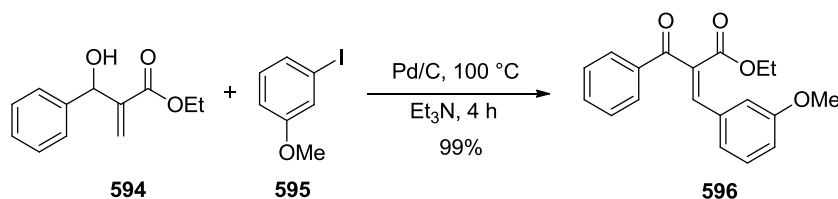


Schéma 86

c4) Activation

À côté du mode d'activation thermique classique, des nouvelles méthodes sont apparues telles que les micro-ondes, la technique ultrasonore et la haute pression ajoutées au répertoire des chimistes comme méthodes physiques pour accélérer les réactions chimiques.

Srinivasan et collaborateurs ont rapporté le premier exemple de réaction de Heck, promu par ultrasons à température ambiante dans un liquide ionique (IL) d'une variété de dérivés halogénés aromatiques couplés à des oléfines avec 80 à 82% de rendement en 3 h (Schéma 87).²⁷⁵

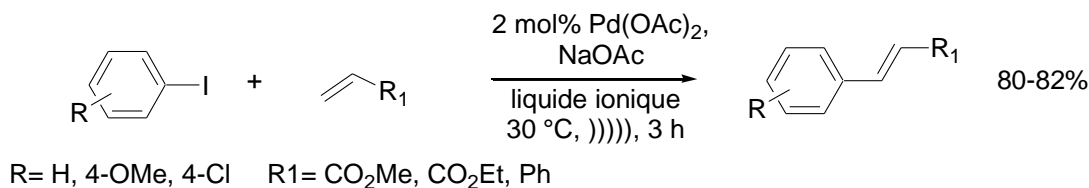


Schéma 87

En 2006, Zhou a développé une réaction de Heck dans l'eau sous irradiation ultrasonore à température ambiante (25 °C), offrant des rendements élevés en produit de couplage correspondant (Schéma 88).²⁷⁶

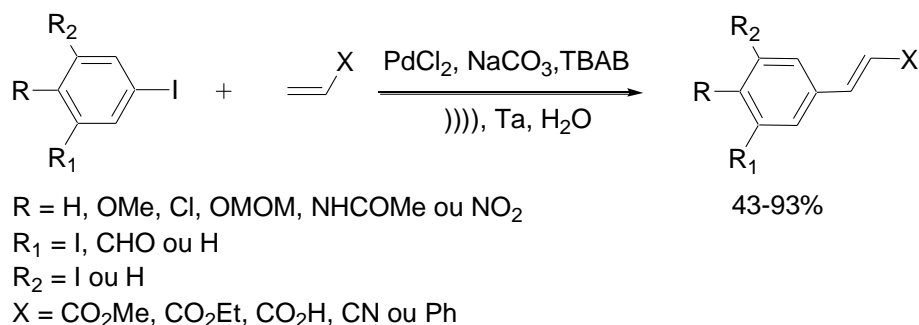


Schéma 88

275 (a) R. R. Deshmukh, R. Rajagopal, K. V. Srinivasan, *Chem. Commun.*, **2001**, 1544-1545. (b) F. Bellina, C. Chiappe, *Molecules*, **2010**, *15*, 2211-2245.

276 Z. Zhang, Z. Zha, C. Gan, C. Pan, Y. Zhou, Z. Wang, M-M. Zhou, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 4339-4342.

La pression non seulement active la réaction de Heck, mais elle peut également avoir un rôle décisif dans le contrôle de la régio- ou de la stéréosélectivité du processus (Schéma 89).²⁷⁷ Alors qu'à pression atmosphérique le processus s'arrête au premier couplage pour donner le cinnamate d'éthyle **597**, sous 1 GPa la réaction continue et le produit de double couplage du bromobenzène **598** est le produit majoritaire (41%), accompagné de 14% de produit de monocouplage **597** et de 25% de produit issu du couplage de **597** avec une molécule d'acrylate d'éthyle **582** selon un processus d'hydroarylation.

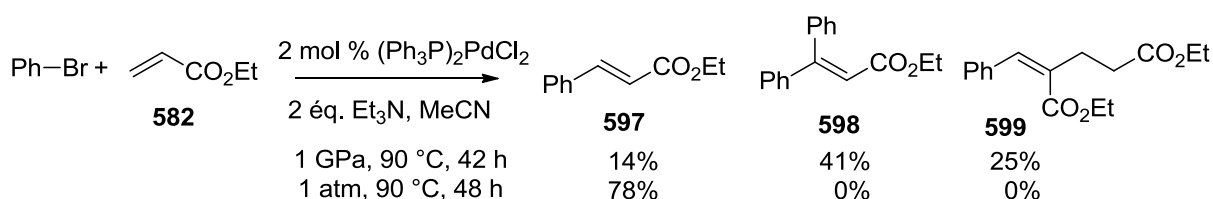


Schéma 89

Une contribution intéressante de Buback et de de Meijere a été menée, afin de mieux comprendre l'influence de la haute pression sur la réaction de Heck et son mécanisme.²⁷⁸ L'influence de la pression a été déterminée sur la réaction de Heck de l'iodobenzène avec les acrylates de méthyle **561**, d'éthyle **582** et de *tert*-butyle **576**, et celle de l'iodure et du triflate de 4-nitrophényle avec l'acrylate de méthyle **561**. A la fois la nature du groupe partant et celle de l'oléfine ont une influence nette sur les vitesses de réaction et les paramètres d'activation (ΔH^\ddagger , ΔS^\ddagger , ΔV^\ddagger), déterminés par spectroscopie FT-IR entre 50 et 120 °C jusqu'à 3000 bar (Figure 41).

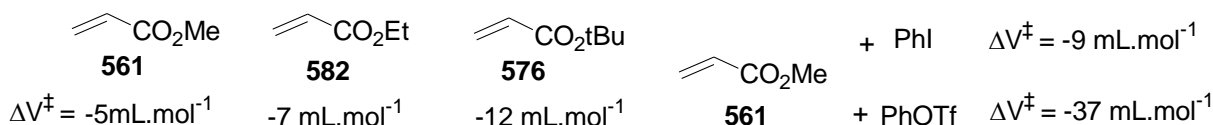


Figure 41

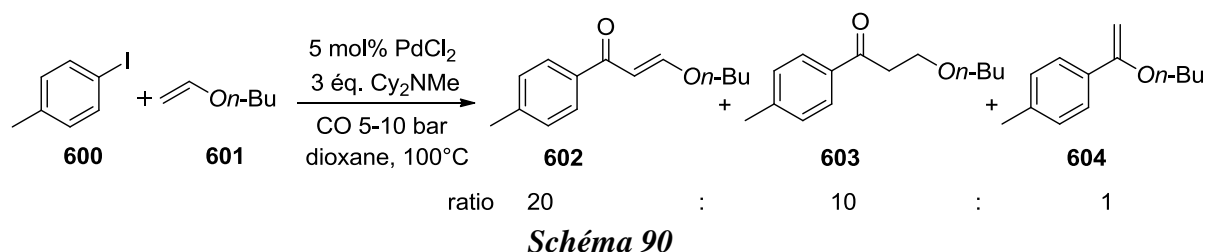
L'acrylate de *tert*-butyle **576** réagit 1,4 fois plus vite que l'acrylate de méthyle **561** et à pression élevée le triflate est un meilleur groupe partant que l'iodure, le volume d'activation étant 4 fois plus important. Ces résultats suggèrent que l'étape limitante de la réaction n'est

277 (a) T. Sugihara, M. Takebayashi, C. Kaneko, *Tetrahedron Lett.*, **1995**, 36, 5547-5550. (b) S. Hillers, S. Sartori, O. Reiser, *J. Am. Chem. Soc.* **1996** 118, 2087-2088.

278 M. Buback, T. Perkovic, S. Redlich, A. de Meijere, *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 2375-2382.

pas celle de l'addition oxydante mais plutôt la coordination de l'alcène ou la carbopalladation qui s'ensuit.

L'équipe de Skrydstrup a montré que la réaction de Heck carbonylative d'iodures d'aryle tel l'iodure de *p*-toluyle **600** avec des oléfines riches en électrons tels que l'éther de vinyle et de butyle **601** pour la synthèse de 1,3-cétoaldéhydes monoprotégés tel **602** employant le chlorure de palladium et une quantité quasi stoechiométrique de monoxyde de carbone, conduit aux produits de couplage linéaire (β) **602** et **603** et non pas au produit de couplage α **604** habituellement obtenu avec les oléfines riches en électrons. La régiosélectivité quasi complète suggère la formation d'un complexe d'arylpalladium intermédiaire qui dicte la régiosélectivité de la réaction en produits linéaires **602** et **603** (Schéma 90).²⁷⁹

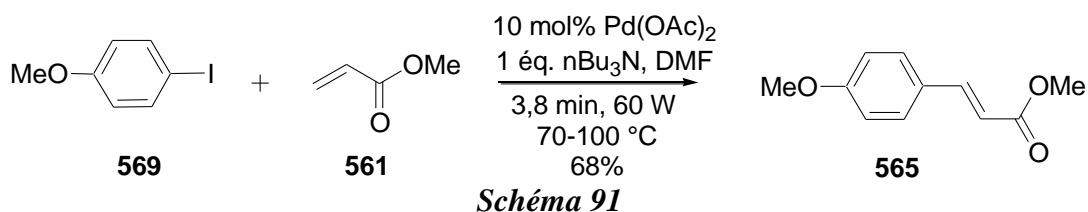


Dans le cadre de notre étude, nous nous limiterons à l'utilisation des micro-ondes (MO). La synthèse assistée par micro-ondes est une science relativement jeune (depuis 1986) et d'intérêt croissant pour la recherche comme en témoigne le nombre de documents et de commentaires qui apparaissent dans la bibliographie. L'avantage le plus important de la chimie sous micro-onde est la réduction du temps de réaction qui nécessite des heures où des jours par chauffage conventionnel alors qu'elles peuvent souvent être terminées en quelques minutes sous chauffage MO. Par ailleurs, les réactions sont non seulement plus rapides, mais elles permettent d'obtenir des produits de pureté supérieure et, en conséquence, des rendements plus élevés. L'accélération spectaculaire, la pureté et les rendements des réactions accrues avec l'aide de MO rendent attractives la demande dans l'industrie et, en particulier, pour la découverte de médicaments.²⁸⁰ En plus d'être économes en énergie, la possibilité d'employer des réactifs plus doux et des solvants moins toxiques ou sans solvant est un autre avantage de cette technologie de chauffage.

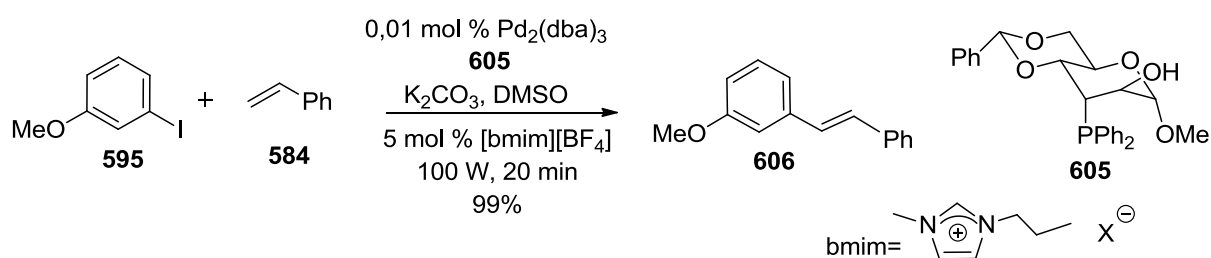
279 T. M. Gøgsig, D. U. Nielsen, A. T. Lindhardt, T. Skrydstrup, *Org. Lett.*, **2012**, 14, 2536-2539.

280 S. K. Ritter, *Chem Eng. News*, **2012**, 90, 32-34.

Les premiers exemples de réactions de Heck promus par chauffage micro-onde ont été menés par le groupe de Larhed en 1996, dans des tubes de Pyrex étanche dans une cavité monomode (Schéma 91).²⁸¹



Depuis lors, le chauffage par MO a été appliqué largement pour cette réaction, à l'aide de différents substrats, catalyseurs et conditions de réaction.^{282a-g} Bromures, iodures et triflates d'aryle, ainsi que des triflates de vinyle, ont bien réagi de manière régio- et stéréosélective dans le couplage avec des oléfines pauvres ou riches en électrons, y compris les éthers d'énol. La richesse de l'activation MO a permis d'exécuter des couplages de Heck suivant différents protocoles tels que dans l'eau en condition de transfert de phase ou en utilisant des ligands hydrosolubles, avec des systèmes catalytiques exempts de ligand, dans des conditions hétérogènes avec des catalyseurs supportés, en l'absence de solvant ou, plus couramment, dans des solvants. En 2012, l'équipe de Zhonggao a montré que le système catalytique $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ avec le ligand 4,6-*O*-benzylidène-3-déoxy-3-(diphénylphosphino)-méthyl-*D*-altropyranoside **605** dans un mélange DMSO/[bmim][BF₄] est très efficace pour le couplage de Heck-Mizoroki de différents types d'iodures, bromures et chlorures d'aryle avec des oléfines par chauffage micro-ondes en 20 min à 100 W (Schéma 92), par exemple pour accéder au composé **606**.²⁸³



281 M. Larhed, A. Hallberg, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 9582-9584.

282 (a) P. Lidström, J. Tierney, B. Wathey, J. Westman, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 9225-9283. (b) *Microwaves in Organic Synthesis*, A. Loupy Ed. Wiley-VCH: Weinheim, **2002** (c) M. Larhed, C. Moberg, A. Hallberg, *Acc. Chem. Res.*, **2002**, 35, 717-727. (d) G. S. Getwoldsen, N. Elander, S. A. Stone-Elander, *Chem. Eur. J.*, **2002**, 8, 2255-2260. (e) J. Tierney, P. Lidstrom, Eds, *Microwave-Assisted Organic Synthesis*; Blackwell: Oxford, **2005**. (f) B. L. Hayes, *Aldrichimica Acta*, **2004**, 37, 66-76. (g) C. O. Kappe, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 6250-6284.

283 Z. Zhonggao, X. Yongrong, D. Ziyi, H. Qiaosheng, X. Jun, S. Jicheng, *Arkivoc*, **2012** (vi) 164-172.

d) Applications synthétiques

d1) La réaction de Heck pour la synthèse de produits naturels

De nombreuses synthèses se basent sur une réaction de couplage de Heck. Par exemple, le groupe de Michael Organ²⁸⁴ rapporte une approche globale vers les composés de type aplysamine **607**, récemment isolée et qui présente une activité anticancéreuse intéressante.

L'originalité de cette synthèse se base sur une réaction de Heck pour préparer le motif amide cinnamique et la mise en œuvre de la réaction en flux continu avec un chauffage par irradiation micro-onde pour le couplage de Heck, ce qui permet de faire varier facilement les différents fragments, permettant d'envisager la synthèse de nombreux dérivés (Schéma 93). L'amide **609** est engagé directement dans la réaction de Heck en présence du bromo-iodé **608**, d'acétate de palladium, de base de Hünig et du bromure de tétrabutylammonium (TBAB) dans le DMF sous irradiation micro-onde pour former le composé **610** avec un rendement de 53%, ce qui permet de préparer l'aplysamine **607** en 4 étapes avec un rendement de 46%.

Si chaque étape est bien réalisée en flux continu, les intermédiaires réactionnels sont généralement isolés et purifiés par chromatographie avant de les engager dans l'étape suivante.

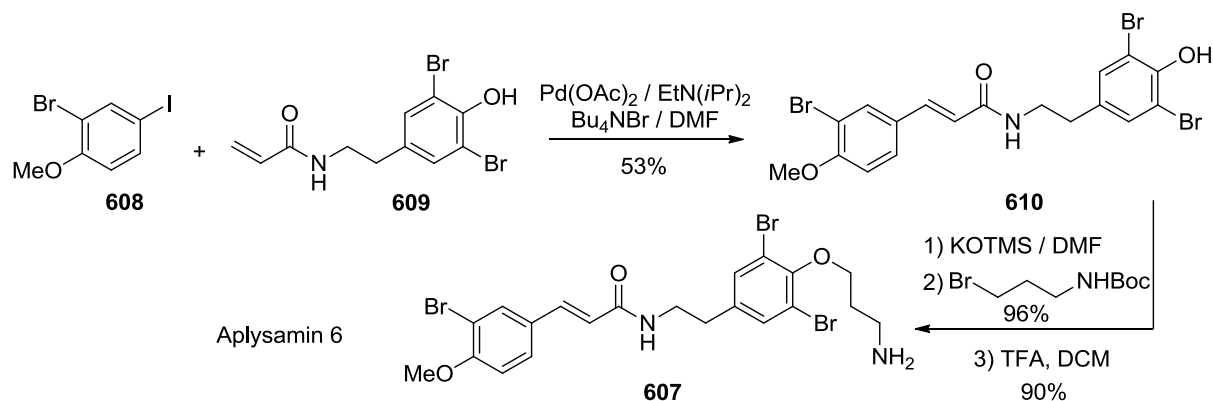


Schéma 93

d2) La réaction de Heck dans la synthèse de la céphalotaxine

Les réactions de cyclisation intramoléculaires de Heck sont d'autant plus importantes qu'elles sont parmi les quelques méthodologies de création des centres quaternaires et

284 S. Achanta, V. Liautard, R. Paugh, M. G. Organ, *Chem. Eur. J.*, **2010**, 16, 12797.

tertiaires asymétriques.²⁸⁵ Le problème majeur de ces cyclisations intramoléculaires est le contrôle des modes *exo* ou *endo* (Schéma 94).²⁸⁶

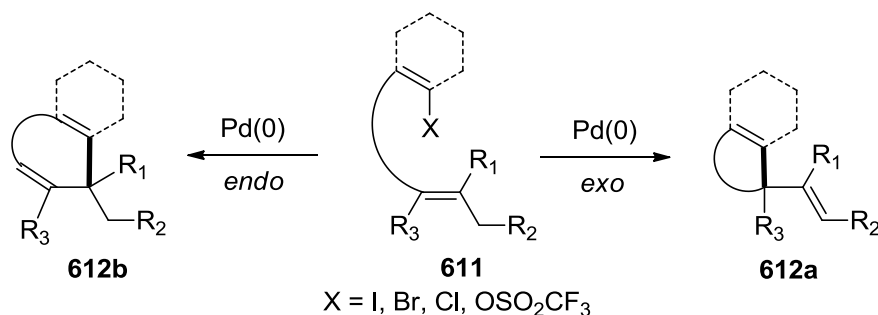


Schéma 94

Sans rentrer dans le détail de ces approches qui dépassent le cadre de notre étude, signalons que les conditions réactionnelles influent beaucoup sur la régiosélectivité *exo*- et *endo*- de la cyclisation. Par exemple, avec les conditions transfert de phase de Jeffery, Rigby et collaborateurs²⁸⁷ ont obtenu la benzazépine **614b** par cyclisation *endo* avec 58% de rendement à partir du dérivé iodé **613**, alors que dans des conditions classiques c'est l'isomère *exo* **614a** qui est obtenu (Schéma 95).

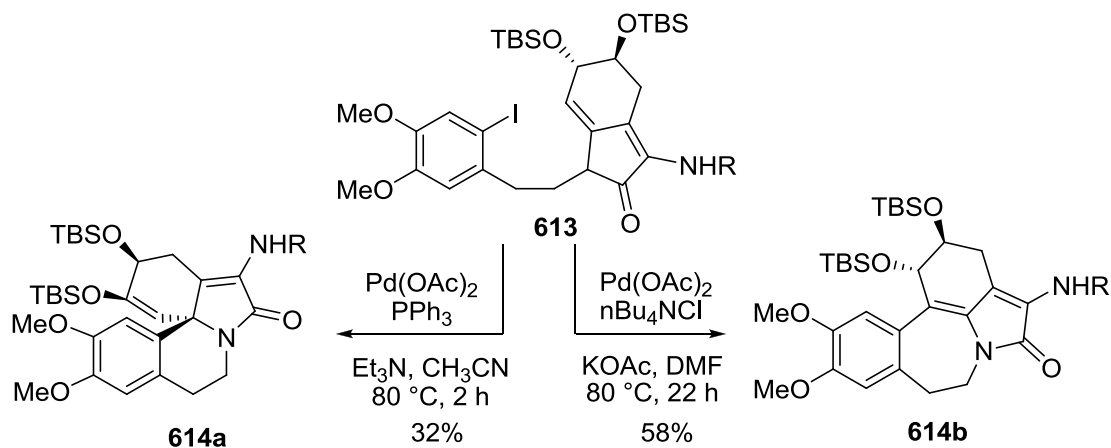


Schéma 95

Nombre de stratégies innovantes de synthèse de la CET **1** ont été élaborés depuis les premières synthèses totales par Weinreb et Semmelheck dans les années 1970. Pour la construction du squelette tétracyclique ABCD, certaines des approches de fermeture de cycle B se basent sur tel couplage de Heck intramoléculaire d'un précurseur arylique halogéné

285 W. Cabri, I. Candiani, *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 1481-1486.

286 F. E. Ziegler, U. R. Charkraborty, R. B. Weisenfeld, *Tetrahedron*, **1981**, 37, 4035-4040.

287 J. H. Rigby, R. C. Hughes, M. J. Heeg, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 7834-7835.

portant une unité spirocyclique insaturée. Cette stratégie développée par le groupe de Tietze en 1997, a été utilisée par les équipes de Ikeda, Suga-Yoshida, Hayes, Stoltz, El bialy, Tu et Renaud (Schéma 96, Tableau 18). Le système catalytique est en général composé du palladacycle de Hermann-Beller **238**, de l'acétate de tétranbutylammonium dans un mélange de solvants aqueux.

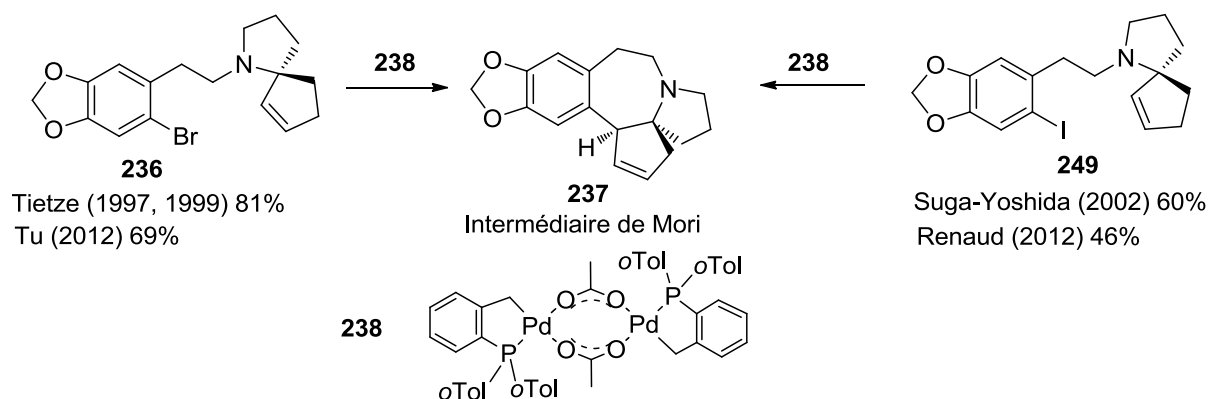


Schéma 96

Tableau 18 : Conditions pour la réaction de Heck intramoléculaire pour la synthèse de l'intermédiaire de Mori

Entrée	Auteurs	238 mol%	Conditions	Rendement 237 %
1	Tietze (1997)	6	2,2 éq. <i>n</i> -BuNOAc, DMF:CH ₃ CN:H ₂ O (5:5:1), 115 °C, 4 h	80%
2	Tietze (1999)	4	2 éq. <i>n</i> -BuNOAc, DMF:CH ₃ CN:H ₂ O (5:5:1), 120 °C, 7 h	81% 87% ee
3	Tu (2012)	10	2 éq. <i>n</i> -BuNOAc, DMF:CH ₃ CN:H ₂ O (5:5:1), 120 °C, 7 h	69% 80% ee
4	Suga-Yoshida (2002)	5	2,25 éq. <i>n</i> -BuNOAc, DMF:CH ₃ CN:H ₂ O (5:5:1), 120 °C, 17 h	60%
5	Renaud (2012)	4	2 éq. <i>n</i> -BuNOAc, DMF:CH ₃ CN:H ₂ O (5:5:1), 120 °C, 7 h	46% 94% ee

Le produit de cyclisation *exo* qui possède la configuration du centre C₄ dictée par celle du centre C₅ comme dans la CET, est l'intermédiaire de Mori **237** obtenu aussi bien à partir du dérivé bromé **236** que du dérivé iodé **249**. Le précurseur tolère des substituants comme l'ont montré Ikeda et El Bialy (amide), Stoltz (alcool) et Hayes (méthyle) (Schéma 97).

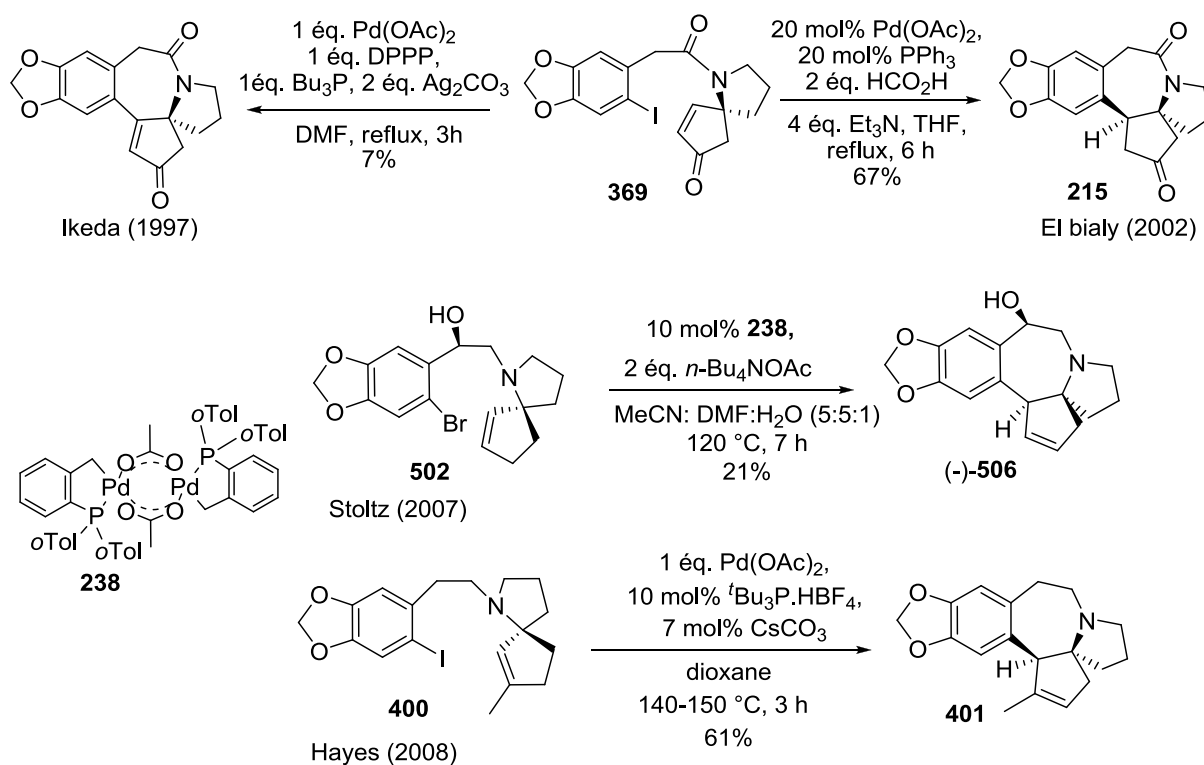


Schéma 97

Finalement, El Bialy a montré que des conditions de Heck réducteur, en présence d'acide formique conduisant au produit saturé **215** avec 67% de rendement, sont supérieures aux conditions classiques utilisées par Ikeda pour la cyclisation de l'iodé l'amido-énone **369** conduisant au produit insaturé avec 7% de rendement.

Il ressort de cette étude bibliographique non exhaustive que les conditions de couplage de Heck sont très variables et qu'en dehors des modulations des substrats, il existe de très nombreuses possibilités de faire varier le milieu, le catalyseur, le ligand ou encore des additifs pour atteindre l'efficacité escomptée. Le problème réside alors dans le choix du système....

III. Etude de la réaction de Heck

1) Résultats préliminaires

Au cours de sa thèse de doctorat, Benoît Richard²⁸⁸ a montré que la réaction de Heck entre le modèle bromovératrole **615** et la méthyl vinyl cétone (MVC) **616** conduit au produit de couplage de Heck attendu **617** avec un très bon rendement. Cependant, les couplages dans de nombreuses conditions impliquant soit le dérivé aromatique AC **620** et la MVC **616** (voie A), soit le composé modèle bromé **615** et le mono acétate de la butanedione **618** (voie B)

²⁸⁸ B. Richard, Thèse N° 25-05-38, Université de Franche Comté, 25/11/2005.

n'ont pas conduit aux dérivés de couplage attendu **621** et **619** respectivement (Schéma 98). Ces résultats ont mis en lumière la difficulté d'effectuer un couplage de Heck entre un dérivé bromé aromatique **620** substitué en ortho et désactivé par le groupement méthylènedioxy et une oléfine **618** également encombrée, car substituée en α du groupe électroattracteur.

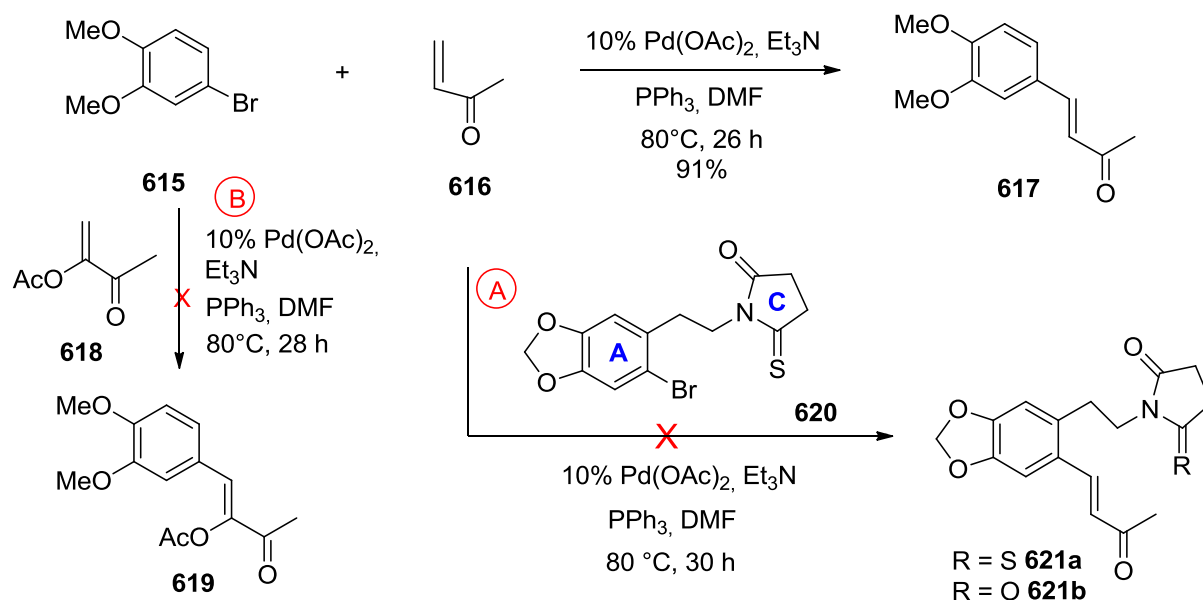


Schéma 98

Enfin, si l'on peut penser que la fonction monothioimide du composé bromé **620** peut être à l'origine de l'échec de la réaction en ayant servi de ligand au palladium, certains exemples montrent que des substrats comportant des atomes de soufre peuvent être réactifs dans des conditions de Heck, par exemple le thiophène.²⁸⁹ De même, certains ligands, par exemple des thiourées, sont utilisés avec succès dans des systèmes catalytiques de Heck.²⁹⁰ Toutefois, nous avons décidé d'effectuer nos essais avec l'imide précurseur correspondant **555** dans un premier temps (Schéma 61, p 146).

Dans le cadre de notre stratégie, il est donc nécessaire de rechercher d'autres conditions de réactions pour obtenir les composés **619** ou **621** (Schéma 98). Des dérivés iodés plus réactifs seront utilisés et cette réaction de Heck sera étudiée en utilisant la méthode des plans d'expériences qui est réputée être un moyen rapide d'étude de l'influence des facteurs sur l'efficacité de réactions, largement utilisée dans l'industrie, mais d'usage confidentiel en secteur académique et en synthèse organique.²⁹¹

289 L. Lavenot, C. Gozzi, K. Ilg, I. Orlova, V. Penalva, M. Lemaire, *J. Organomet. Chem.* **1998**, 567, 49-55.

290 D. Yang, Y.-C. Chen, N.-Y. Zhu, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1577

291 H. Van Ryswyk, G. R. Van Hecke, *J. Chem. Educ.*, **1991**, 68, 878-882.

Nous nous familiariserons avec cette technique pour l'étude du couplage de Heck en vue de son optimisation. A notre connaissance, une seule étude a été reportée par Aggarwal qui a ainsi optimisé l'accès à un intermédiaire de synthèse **623** par réaction de Heck du iodobenzène avec l'aldéhyde cinnamique **622**, avec un gain de près de 40% de rendement (de 57 à 98%, 89% isolé) (Schéma 99).²⁹²

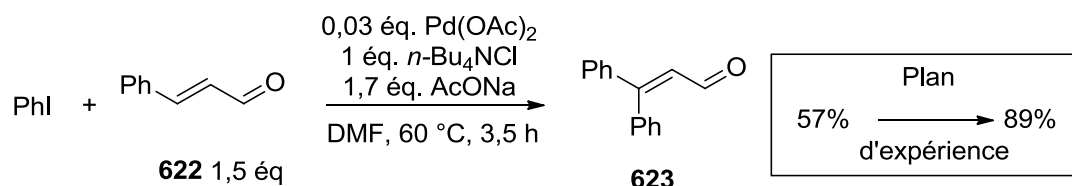


Schéma 99

Dans notre cas, il s'agira d'identifier et d'optimiser des conditions expérimentales pour la réaction de couplage de dérivés **555** avec les oléfines **556**.

Nous avons relevé dans le paragraphe suivant les quelques conditions utilisées pour le couplage de Heck d'oléfines α -substituées et qui ont été évaluées pour les études préliminaires, mais sans succès.

En 1996, Tamariz a décrit le couplage pallado-catalysé de l'oléfine α -oxygénée 3-(*p*-nitrobenzoyloxy)-3-butèn-2-one **624** avec des halogénés aryliques ou vinyliques, qui donne les 4-aryl- et 4-vinyl-3-(*p*-nitrobenzoyloxy)-3-butèn-2-ones correspondantes (Schéma 100).²⁹³ L'utilisation de triphénylphosphine permet de doubler le rendement en produit de couplage **625** issu du *p*-iodoanisole **569**. Cependant, la réaction est inopérante avec l'*o*-iodoanisole **626**.

²⁹² V. K. Aggarwal, A. C. Staubitz, M. Owen, *Org. Process Res. Dev.*, **2006**, *10*, 64-69.

²⁹³ L. Villar, J.P. Bullock, M.M. Khan, A. Nagarajan, R.W. Bates, S.G. Bott, G. Zepeda, F. Delgado, J. Tamariz, *J. Organomet. Chem.*, **1996**, *517*, 9-17.

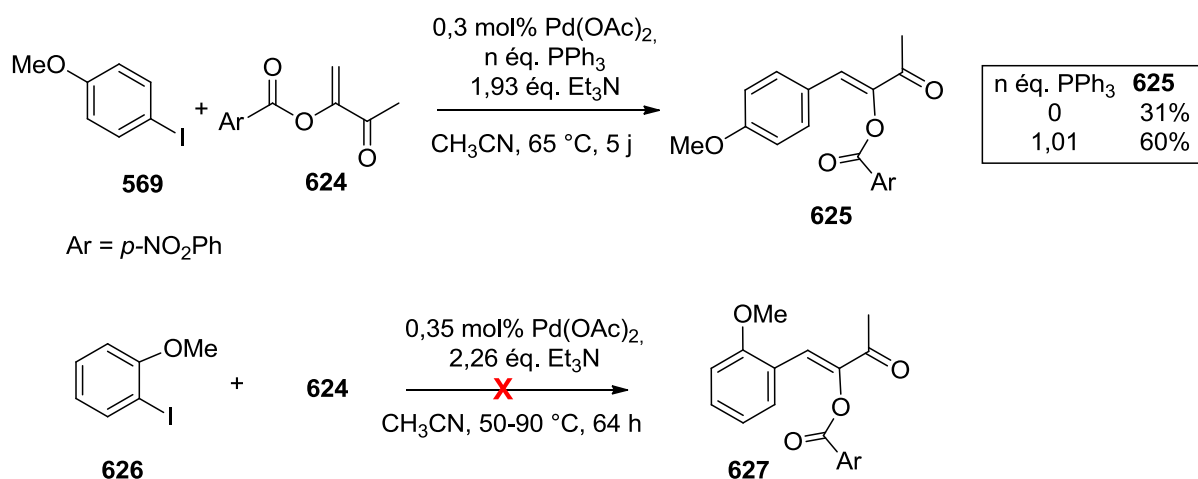


Schéma 100

Plus tard, Han et collaborateurs ont couplé le dérivé bromé avec l'oléfine **628** en utilisant le système catalytique développé par Hartwig en 1999²⁹⁴ et amélioré par Fu et Littke en 2001²⁰⁶ composé de palladium-tributylphosphine et méthyldicyclohexylamine dans le dioxane, et en chauffant à 110 °C pendant 30 h, conduisant avec 69% de rendement à l'oléfine **630** (Schéma 101).²⁹⁵

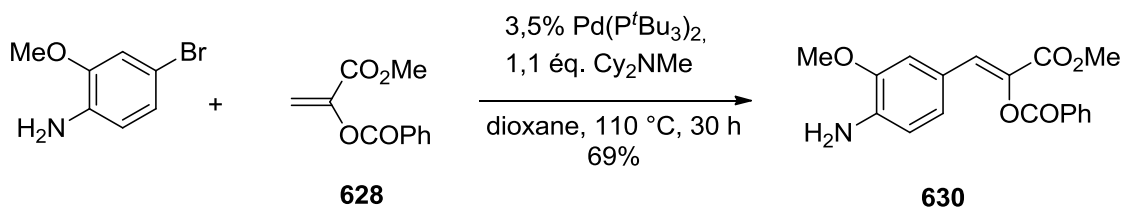


Schéma 101

L'oléfine α -substituée la plus fréquemment engagée dans des réactions de Heck, est l' α -acétamidoacrylate de méthyle **629**, disponible dans le commerce. Fredj l'a couplé avec l'orthoiodoanisole **626** en conditions de transfert de phase, en présence de $n\text{Bu}_4\text{NCl}$ et NaHCO_3 conduisant au produit attendu **631** avec 50-53% de rendement (Schéma 102).²⁹⁶

294 K. H. Shaughnessy, P. Kim, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 2123-2132.

295 X. Han, X.-J. Jiang, R. L. Civiello, A. P. Degnan, P. V. Chaturvedula, J. E. Macor, G. M. Dubowchik, *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3993-3996.

296 A. S. Carlström, T. Frejd, *Synthesis*, **1989**, 414-418.

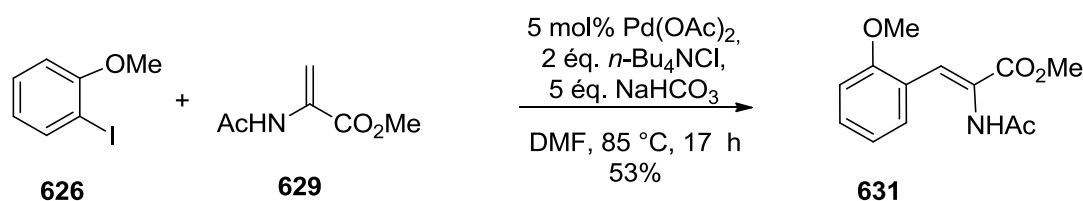


Schéma 102

Le 2-acétamidoacrylate de méthyle **629** a été utilisé par Sinou²⁹⁷ pour la réaction de Heck avec un bromé aromatique substitué en para **632** conduisant au produit de couplage attendu **633** avec 80% de rendement en utilisant 10% d'acétate de palladium avec 0,33 équivalent de tri-*ortho*tolylphosphine et un additif, le nitrate d'argent (Schéma 103).

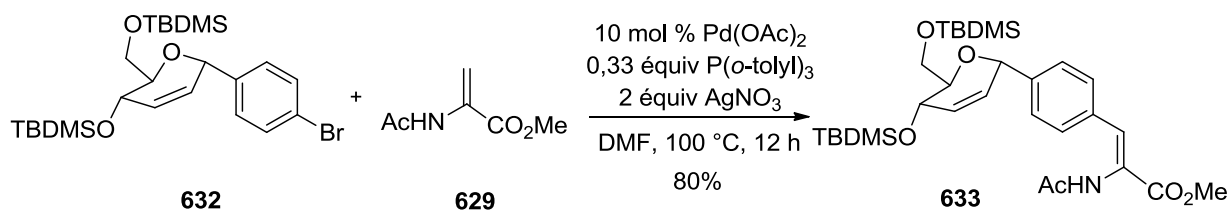


Schéma 103

Le couplage de Heck sans ligand de bromés aryles avec une variété d'oléfines est efficace pourvu que la concentration en palladium soit comprise entre 0,01 et 0,1 mol% (Schéma 104).²⁹⁸ A des concentrations plus faibles, les réactions deviennent très lentes. Néanmoins, pour le couplage du *p*-bromoanisole **634** avec l'acétamidoacrylate de méthyle **629**, le rendement en produit **635** n'est que de 23%, alors qu'avec la *p*-bromoacétophénone apauvrie en électrons et donc plus réactive, le rendement en produit de couplage est de 71%.

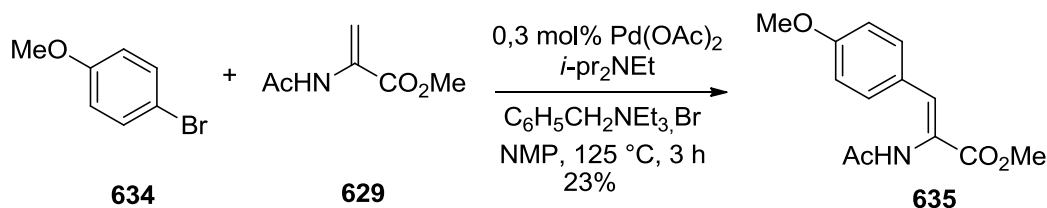


Schéma 104

297 D. Sinou, G. Fakha, X. Xu, *Tetrahedron*, **2002**, 58, 7539-7544.

298 C. E. Willans, J. M.C.A. Mulders, J. G. de Vries, A. H.M. de Vries, *J. Organomet. Chem*, **2003**, 687, 494-497.

Pour préparer des analogues de tyrosine, Lazarus et Okada ont réalisé le couplage de Heck de six dérivés iodés aromatiques, en présence d'acétate de palladium, de tri*ortho*-tolylphosphine et de triéthylamine (Schéma 105). L'iodé aromatique disubstitué en *ortho* et *ortho'* **636** est ainsi efficacement couplé à l'acétamidoacrylate de méthyle **629** avec 79% de rendement en énamide **637**.²⁹⁹

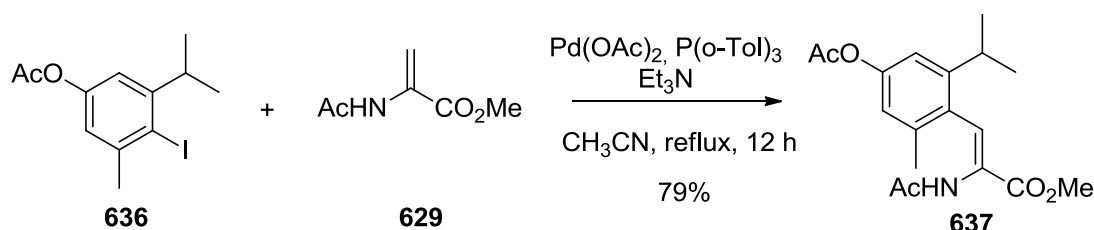


Schéma 105

Le couplage peut être effectué lorsque le motif acétamidoacrylate est fixé par l'atome d'azote via le linker Rink à un support solide (polystyrène), ce qui a permis à l'équipe de Takahashi de préparer 36 produits de couplage avec de bons rendements en utilisant 4 mM de Pd(dba)₂ dans l'acétonitrile en présence de chlorure de tétrabutylammonium et de triéthylamine à 80 °C, conduisant après réduction à des dipeptides contenant un motif phénylalanine (Schéma 106). L'*ortho*-iodotoluène **638** est ainsi couplé avec 87% de rendement à l'énamide **639**, conduisant en 3 h à l'énamide substitué **640**.³⁰⁰

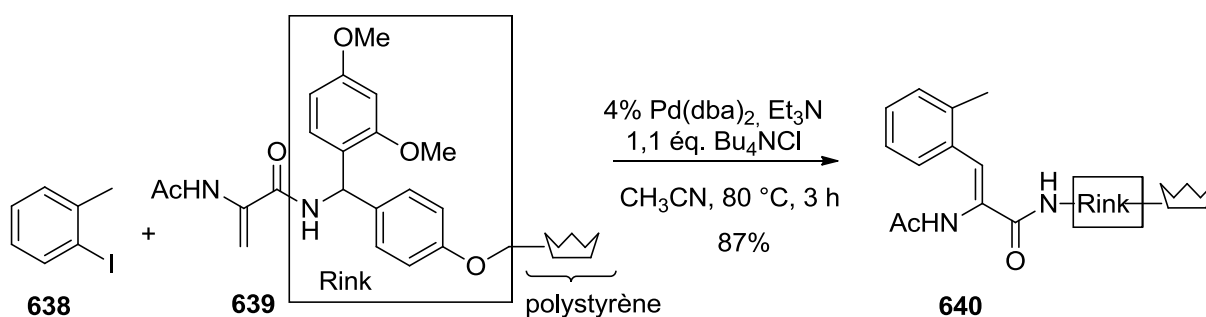


Schéma 106

Aucune de ces conditions appliquées au bromé aromatique **615** et au mono acétate de la butanedione **618** n'ayant permis d'obtenir le produit de couplage **619** attendu, nous avons reconsidéré les conditions de réaction de Heck à partir de dérivés iodés.

299 T. Li, Y. Fujita, Y. Tsuda, A. Miyazaki, A. Ambo, Y. Sasaki, Y. Jinsmaa, S. D. Bryant, L. H. Lazarus, Y. Okada, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 586-592.

300 T. Doi, N. Fujimoto, J. Watanabe, T. Takahashi, *Tetrahedron Lett.*, **2003**, 44, 2161-2165.

2) Modèle d'étude

Le composé aromatique iodé **555b** étant obtenu en 4 étapes à partir du safrol **547**, nous allons donc étudier cette réaction dans un premier temps avec des modèles disponibles dans le commerce et utiliser pour ce couplage un dérivé aromatique iodé **626** plus réactif que le dérivé bromé correspondant, et une oléfine en α -substituée, le méthacrylate de méthyle **641**, afin d'accéder au produit de couplage **642**, modèle du composé **553** précurseur de l'intermédiaire de cyclisation monothioimide **552** (Schéma 107).

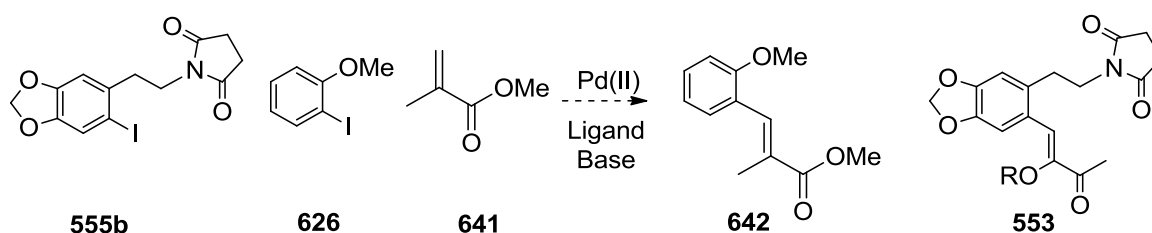


Schéma 107

Le composé modèle aromatique iodé **626** utilisé pour la réaction de Heck est un composé aromatique désactivé, puisqu'il comporte un groupement méthoxy qui va enrichir le noyau aromatique en électrons, et va donc rendre plus difficile l'introduction du palladium dans la liaison aromatique C-I, et présente une substitution en ortho de l'halogénure : il s'agit du 2-méthoxy-iodobenzène ou *ortho*-anisole **626**.

Ce dérivé iodé **626** a déjà été mis en réaction avec différentes oléfines dans des conditions variées que nous avons présentées ci dessous (Schéma 108, Tableau 19). Nous avons représenté à la fin du tableau les quelques ligands particuliers **657-659** qui ont été parfois utilisés pour ce couplage (entrées 1, 3, 7 et 9) et le produit de couplage de l'oléfine **654**.

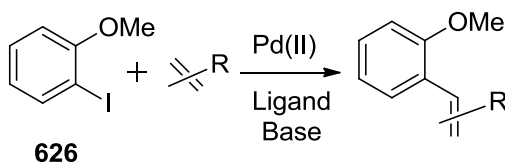
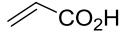


Schéma 108

Comme illustré dans le tableau 19, nous avons tout d'abord remarqué que le méthacrylate de méthyle **641** n'avait pas été utilisé, à notre connaissance, dans la réaction de Heck avec l'*o*-iodoanisole **626**. Nous ne pourrions donc pas simplement utiliser des conditions opératoires déjà mises au point pour ce système.

Tableau 19: a: Heck (d'après PhI), b: Double arylation, * tandem Heck/fluorination, (Pd_{np})-A/FSG: Pd perfluoro-tagged palladium nanoparticles immobilised on fluorous silica gel.

N ref	Oléfine	Catalyseur (éq. ou mol%)	Ligand (éq. ou mol%)	Base éq.	T °C	Temps h	Solvent /additif	Rdt %
1 301	 COMe 616 3 éq.	Pd(OAc) ₂ 5 mol %	TTMPP 657 10 mol %	Eponge à proton	80	14	-	32
2 302	 CO ₂ Me 561 2 éq.	Pd(OAc) ₂ 0,01 éq.	-	2 Na ₂ CO ₃ 1 Bu ₃ N	MO	90 s	H ₂ O TBAB, 1eq	91
3 303	1 éq.	Pd(OAc) ₂ 3 mol%	N-donor ligand 658 0,73 éq.	-	Ta	3,5	H ₂ O	93
4 304	1,5 éq.	PdAS-V 0,0005 mol %		1,5 Et ₃ N	100	40	Toluène	90
5 305	 CO ₂ Et 562 1,1 éq.	Pd(OAc) ₂ 1 mol %	-	1,1AgOAc	110	0.25	HOAc a	64
6 305	0.5 éq.	1 mol%		2,1	110	12	HOAc b	61
7 306	1 éq.	Pd(OAc) ₂ 3 mol%	N-donor ligand 658 0,73 éq.	-	Ta	4	H ₂ O	94
8 306	 CO ₂ nBu 643 1 éq.	PdCl ₂ 0,2 mol %	PPh ₃ 0,27 mol %	1,5 Et ₃ N	120	1	[bmim]- [PF ₆], 2g	99
9 307	4 éq.	Pd(OAc) ₂ 15 mol %	Phosphite 659 0,03 mol%	4,5 K ₂ CO ₃	120	6	DMF	73
10 308	3 éq.	Pd ₂ (dba) ₃ -CNT 0,2 mol %	-	4,5 K ₃ PO ₄	50	12	DMF	73
11 309	1 éq.	Pd(NH ₃) ₂ Cl 0,01 mol%	-	2 Bu ₃ N	140	48	H ₂ O	96
12 310	 CO ₂ H 644 9 éq.	PdCl ₂ - liquide ionique 5 mol %	-	18 Na ₂ CO ₃	100	24	H ₂ O	83

301 S. Cacchi, G. Fabrizi, A. Goggiamani, *ARKIVOC*, **2003** (viii) 58-66.

302 N. E. Leadbeater, V. A. Williams, T. M. Barnard, M. J. Collins Jr, *Synlett*, **2006**, 2953-58.

303 S. S. Pawar, D. V. Dekhane, M. S. Shingare, S. N. Thore, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 4252-55.

304 M.A Yoichi Yamada, K. Takeda, H. Takahashi, S. Ikegami, *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4097-05.

305. D. Xu, C. Lu, W. Chen, *Tetrahedron*, **2012**, 68, 1466-74.

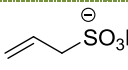
306 S. B. Park and H. Alper, *Org. Lett.*, **2003**, 15, 3209-12.

307 E. Jung, K. Park, J. Kim, H-T. Jung, I-K. Oh, S. Lee, *Inorg. Chem. Commun.*, **2010**, 13, 1329-31.

308 Y. Jo, J. Y. Kim, I. K. Oh, H. C. Choi, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2010**, 31, 1735-37.

309 S-H. Huang, J-R. Chen, F-Y. Tsai, *Molecules*, **2010**, 15, 315-30.

310 X. Shi, X. Han, W. Ma, J. Fan and J. Wie, *Appl. Organometal. Chem.*, **2012**, 26, 16-20.

13 311	 645 12 éq.	PdCl ₂ 0,4 mol%	PPh ₃ 1,6 mol%	3 K ₂ CO ₃	100	12	Dioxane- H ₂ O	75
14 312	 646 1 éq.	Pd(OAc) ₂ 0,02 éq.	-	3 K ₂ CO ₃	180	10 min	H ₂ O	83
15 313	 647 5 éq.	Pd(OAc) ₂ 5 mol %	PPh ₃ , 5 mol %	3 éq. <i>t</i> BuOK,	45	6	CH ₃ CN	17 RM N
16 314	 648 2 éq.	Pd(AcO) ₂ 0,5 mol %	-	1 éq. K ₂ CO ₃	85	16	DMSO	78
17 307	 584 1,5 éq.	Pd(NH ₃) ₂ Cl 0,01 éq.	-	2 éq. Bu ₃ N,	140	24	H ₂ O, TBAB 1 éq.	93
18 315	1,5 éq.	PdCl ₂ 3 mol %	PEGD-600, 3 mol %.	1,5 CsCO ₃ ,	80	5	Toluène: PEG600 3:1	91
19 316	2 éq.	Pd/H ₂ O (stabilisé HCl) 0,0019 mol %	-	3,7 K ₂ CO ₃	170	20 min	H ₂ O, TBAB 1 éq.	45
20 317	1 éq.	Pd@SPB 0,125 - 2,4%	-	6 K ₂ CO ₃	70	24	H ₂ O NBu ₄ Br 1 éq.	96
21 318	1,2 éq.	Pd/g silica 0,05 %	-	1,5 Na ₂ CO ₃	140	23	DMF	90
22	3 éq.	Pd ₂ (dba) ₃ -CNT, 0,2 mol %	-	4,5 K ₃ PO ₄	70	12	DMF	91
23 319	 649 1,2 éq.	(Pd _{np})-A/FSG 0,1 mol %	-	tampon pH 11 NaHCO ₃ / NaOH 1,5 M	100	48	H ₂ O	68
24 320	 650 0,2 éq.	Pd(OAc) ₂ 10 mol%	-	8 Et ₃ N	120	15	CH ₃ CN, n-Bu ₄ NCl 1,5 éq.	80

311 A. I. Roshchin, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 3633-35.

312 G. K. Surya Prakash, P. V. Jog, H. S. Krishnan, G. A. Olah, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 2140-43.

313 S. K. Stewart, A. Whiting, *J. Organomet. Chem.*, **1994**, 482, 293-300.

314 A. Deagostino, C. Prandi, P. Venturello, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 3815-17

315 D. Sawant, Y. Wagh, K. Bhatte, A. Panda, B. Bhanage, *Tetrahedron. Lett.*, **2011**, 52, 2390-93.

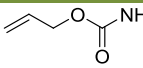
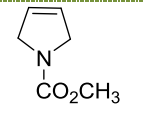
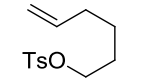
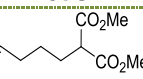
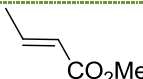
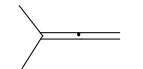
R. K. Arvela and N. E. Leadbeater, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1786-90.

317 S. Proch, Y. Mei, J. M. Rivera Villanueva, Y. Lu, A. Karpov, M. Ballauff, R. Kempe, *Adv. Synth. Catal.*, **2008**, 350, 493-500.

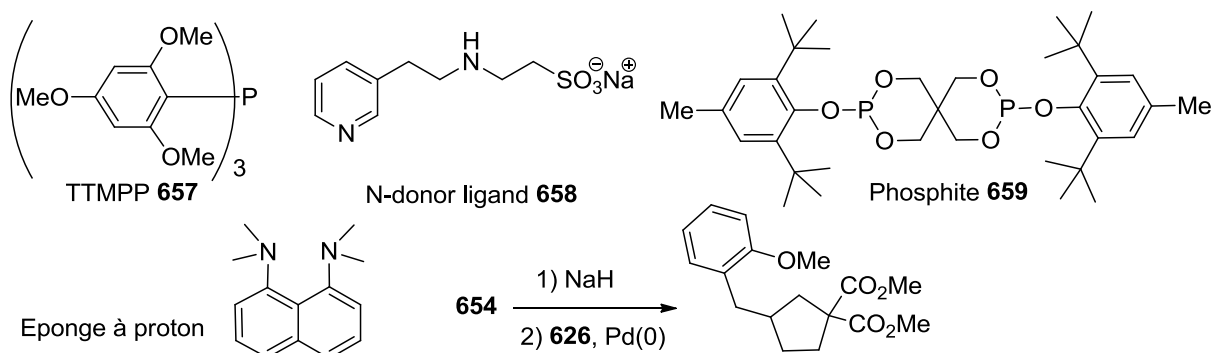
318 Ö. Aksin, H. Türkmen, L. Artok, B. Çetinkaya, C. Ni, O. Büyükgüngörd, E. Özkal, *J. Organometal. Chem.*, **2006**, 691, 3027-36.

319 A. Boffi, S. Cacchi, P. Ceci, R. Cirilli, G. Fabrizi, A. Prastaro, S. Niembro, A. Shafir, A. Vallribera, *Chem. Cat. Chem.*, **2011**, 3, 347-53.

320 Y. Liu, B. Yao, C-L. Deng, R-Y. Tang, X-G. Zhang, J-H. Li, *Org. Lett.*, **2011**, 13, 1126-29.

25 321	 651 1 éq.	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 0,1 mol %	$(n\text{-Bu})_3\text{P}$ 0,2 mol %	1,3 éq. K_2CO_3	80	7	DMF	70
26 322	 652 10 eq	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 0.05 éq.	$\text{P}(o\text{-tol})_3$ 0,11 éq.	0,7 éq. $\text{Ag}_2\text{CO}_3 + 4$ éq. $i\text{Pr}_2\text{NEt}$	100	20	DMF	47
27 323	 653	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 5 mol %	$\text{P}(o\text{-tol})_3$ 0,1 éq.	$i\text{Pr}_2\text{NEt}$	90	40 min	THF, TBAF 2 éq.*	24
28 324	 654	$\text{Pd}(0)$ 4 mol%	dppe	NaH	85	4	DMSO	78
29 325	 655 1 éq.	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 2 mol%	-	1 éq. Et_4NCl 1,5 éq. Cy_2NMe	95-100	20	DMA	65
30 326	 656 5 éq.	$\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 10 mol %	PPh_3 , 0,2 éq.	2 éq. Ag_2CO_3	120	48	Toluène	40

a: Heck (d'après PhI), b: Double arylation, * tandem Heck/fluorination



TBAF: F fluorure de Tetra-*n*-butylammonium $n\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$

TBAB: Bromure de Tetra-*n*-butylammonium $n\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$

dppe: diphenylphosphinoéthane

(Pd_{np})-A/FSG: Pd perfluoro-tagged palladium nanoparticles immobilised on fluorosilica gel

Pd@SPB: palladium nanoparticles immobilized on spherical polyelectrolyte brushes.

PEG600: Polyéthylène glycol de 600 Da

PEGD-600: PEG600-bisdiphenylphosphine

321 K. Ono, K. Fugami, S. Tanaka, Y. Tamaru, *Tetrahedron Lett.*, **1994**, 35, 4133-36.

322 C. Sonesson, M. Larhed, C. Nyqvist, A. Hallberg, *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 4756-63.

323 M. Placzek, P. LaBeaume, L. Harris, P. Ng, M. Daniels, A. Kallmerten, G. B. Jones, *Tetrahedron Lett.*, **2011**, 52, 332-35.

324 G. Fournet, G. Balme, J. Gore, *Tetrahedron*, **1990**, 46, 7763-74.

325 C. Gürtler and S. L. Buchwald, *Chem. Eur. J.*, **1999**, 5, 3107-12.

326 (a) R. Grigg, S. Brown, V. Sridharan, M.D. Uttley, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 3247-3250. (b) S. Brown, R. Grigg, J. Hinsley, S. Korn, V. Sridharan, M. D Uttley, *Tetrahedron*, **2001**, 57, 10347-55.

L'examen de ces trente conditions expérimentales différentes nous a guidés dans le choix des variables du système réactionnel à développer: catalyseur, ligand, base, et solvant. De même, aucune oléfine α -substituée n'a été couplée à l'*o*-iodoanisole **626**. Néanmoins, deux oléfines β -substituées ont été couplées avec succès: il s'agit du crotonate de méthyle **655** ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$, Cy_2NMe , Et_4NCl , DMA, 100 °C, 20 h, 65%)³²⁷ et de l'acide fumarique **645** (PdCl_2 , PPh_3 , K_2CO_3 , dioxane-eau, 100 °C, 12 h, 75%).³²⁸

Notre choix de catalyseur s'est donc porté sur PdCl_2 utilisé pour le couplage de l'acide fumarique **645** notamment, et $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ utilisé dans la moitié des couplages de l'*o*-iodoanisole **626**, et qui sont de plus des catalyseurs au palladium très couramment utilisés.

Pour le ligand, nous avons choisi la très classique triphénylphosphine utilisée dans le couplage de l'acide fumarique **645**, et un ligand bidentate, le diphénylphosphinoferrocène (dppf)³²⁹ qui est l'archétype des ligands phosphinoferrocènes et offre l'avantage de favoriser des réactions de Heck de type cationique, contrairement à la triphénylphosphine. Bien que ce ligand n'ait pas été utilisé avec le 2-iodoanisole **626**, un autre ligand de type diphosphine, le diphénylphosphinoéthane (dppe) a montré son efficacité (Tableau 19, réaction 28).

Sur les 30 réactions présentées dans ce tableau, quatorze réactions utilisent des oléfines électrophiles comme la MVC **616**, l'acide acrylique **644**, les acrylates de méthyle **561**, d'éthyle **562** et de butyle **643** ou encore le crotonate de méthyle **655** et l'acide fumarique **645**, et leurs conditions opératoires devraient nous être utiles pour développer celles du couplage du méthacrylate de méthyle **641** qui est également une oléfine électrophile. Si nous essayons chaque système, nous aurons déjà, au cas où les résultats ne sont pas bons au départ, 14 essais à mener, avec des catalyseurs ou des ligands pas toujours disponibles (réactions 1-13,29).

Pour le choix de la base, nous avons sélectionné la dicyclohexylamine proposée par Hartwig²⁹⁴ et Fu²⁰⁶ pour le couplage de dérivés peu réactifs comme les chlorés et les bromés, et qui a été employée pour le couplage difficile du crotonate de méthyle **655** avec l'*o*-iodoanisole **626** (Tableau 19, réaction 29). Comme nous envisageons d'effectuer une réaction dans l'eau, nous avons choisi une base inorganique, l'acétate de sodium, car il a été montré par Beletskaya que l'acétate de potassium avait un effet bénéfique sur la vitesse de la réaction, comparativement au carbonate de potassium (Schéma 80, p 145).

327 C. Gürtler and S. L. Buchwald, *Chem. Eur. J.*, **1999**, 5, 3107-12.

328 A. I. Roshchin, *Tetrahedron Lett.*, **2010**, 51, 3633-35.

329 G. Bandoli, A. Dolmella, *Coord. Chem. Rev.* **2000**, 209, 161-196.

Il est intéressant de noter qu'un tiers des couplages exploitent l'eau, avec ou sans sel d'ammonium quaternaire, ce qui nous intéresse dans un contexte « éco-compatible » afin de limiter au maximum l'utilisation de solvant organiques volatiles. D'autre part, d'un point de vue pratique, nous souhaitons éviter les solvants polaires mais de haut point d'ébullition comme le DMF (Eb = 153 °C), le diméthylacétamide (DMA, Eb = 165 °C) ou le DMSO (Eb = 191 °C). Notre choix s'est donc porté sur l'eau, sans additif dans un premier temps pour limiter les auxiliaires de synthèse, et sur le toluène qui dissout bien les composés aromatiques.

La stratégie pour optimiser cette réaction consiste à utiliser un plan d'expérience qui devrait nous permettre d'accéder plus sûrement à des résultats optimaux.

3) Faisabilité de la réaction: caractérisation du produit de couplage

La réaction de Heck est en général conduite dans un solvant polaire et avec chauffage conventionnel (bain d'huile) ou fréquemment sous irradiation micro-onde. Dès 1997, l'équipe de Diaz-ortiz démontrait que la réaction de Heck sans solvant était extrêmement rapide, ayant lieu en 22 min sous MO.³³⁰ Plus récemment, l'équipe d'Arvela et Leadbeater a démontré l'utilisation des MO permettant des concentrations ultra faibles des métaux pour des réactions de Heck en des laps de temps de dizaines de minutes.³³¹ Nous avons donc choisi le chauffage par MO qui permet d'accélérer nettement la vitesse de réaction. Les premiers essais ont visé à obtenir le produit de couplage modèle **642** pour le caractériser et pouvoir mettre en place le plan d'expérience pour étudier l'influence des différents facteurs, puis ensuite optimiser la réaction en vue la synthèse de la céphalotaxine. Pour cela nous avons choisi deux catalyseurs (Pd(OAc)₂ et PdCl₂), deux ligands (PPh₃ et dppf)³³² et deux bases (Cy₂NMe²⁴⁴ et NaOAc) classiquement utilisés dans les réactions de Heck.

Nous avons utilisé un standard interne, le 1,6-diméthoxynaphtalène **660** qui n'interfère pas avec les réactifs, l'iodoanisole **626** et le méthacrylate de méthyle **641**, pour pouvoir déterminer le rendement de la réaction sur le brut réactionnel par RMN, par l'intégration des signaux respectifs des groupes méthoxy du standard interne **660** et de ceux du composé aromatique **642** attendu en fin de réaction (Figure 42).

330 Á. Díaz-Ortiz, P. Prieto, E. Vázquez, *Synlett.*, **1997**, 3, 269-270.

331 R. K. Arvela, N. E. Leadbeater, *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 1786.

332 K. Olofsson, M. Larhed, A. Hallberg, *J. Org. Chem.*, **1998**, 63, 5076-5079.

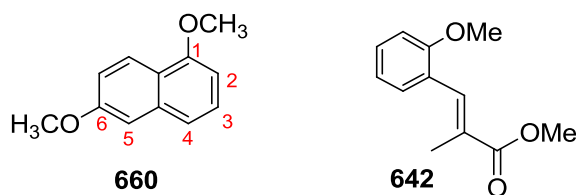


Figure 42

Lors de ces essais préliminaires (Tableau 20), nous avons observé par CCM que l'iodoanisole **626** a bien réagi sous MO en mode standard (contrôlé par la température de réaction et non par la puissance sélectionnée) en présence du SI **660** et qu'il ne reste plus de dérivé iodé de départ **628**, ce qui traduit une conversion totale (Schéma 109). Le protocole utilisé s'appuie sur celui décrit dans la bibliographie et le pourcentage de catalyseur employé pour chaque synthèse est de 5% molaire par rapport à l'iodoanisole **626**, toute comme le ligand, l'oléfine étant placée en excès (2 équiv), comme la base (8 équ.).

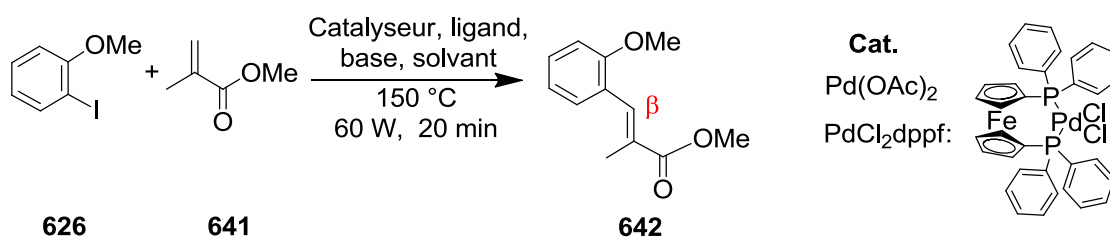


Schéma 109

En dépit de ce résultat encourageant, l'utilisation du SI **660** n'a pas été satisfaisante, car lors du traitement de la réaction pour éliminer les sels de palladium, le SI **660** reste insoluble alors que le produit de couplage est soluble.

Tableau 20: Réactions effectuées sous irradiation micro-ondes (60 W) à 150 °C pendant 20 min, avec 2 équivalents d'oléfine **641** et en présence du standard interne (SI) (entrées 1-5) ou sans SI (entrée 6). *: Rendement en dérivé **642** purifié.

Entrée	Catalyseur mol %	Ligand mol %	Base	Solvant	SI mmol	Conversion %
1	5 PdCl ₂	5 dppf	Cy ₂ NMe	DMF	1	100
2	5 Pd(OAc) ₂	5 PPh ₃	Cy ₂ NMe	DMF	1	100
3	10 Pd(OAc) ₂	10 PPh ₃	Cy ₂ NMe	DMF	1	100
4	5 Pd(OAc) ₂	5 PPh ₃	Cy ₂ NMe	Toluène	1	100 (51*)
5	10 Pd(OAc) ₂	10 PPh ₃	Cy ₂ NMe	Toluène	1	100
6	5 PdCl ₂	5 dppf	NaOAc	Toluène	0	100 (82*)

Ce problème d'insolubilité du SI **660** lors du traitement nous a contraints pour chaque essai à purifier le brut de réaction par chromatographie sur colonne selon la technique « Flash ». Nous avons cependant réussi à isoler le produit de couplage attendu **642** (essais 4 et 6) avec un rendement de 51 et 82% respectivement et l'avons caractérisé par RMN et IR. Il s'agit comme attendu du produit de couplage terminal β .

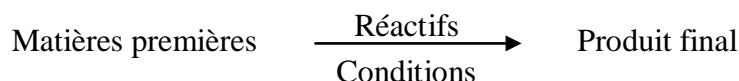
Nous avons donc décidé de ne plus utiliser de standard interne pour déterminer rapidement le rendement de la réaction de couplage.

IV. Mise en place du plan d'expérience

1) Généralités

Le principe fondamental en synthèse multi-étapes est que la séquence réactionnelle contienne le moins possible d'étapes pour réduire la durée de la synthèse et augmenter le rendement. Idéalement, chaque étape doit être optimisée pour fournir les produits avec le meilleur rendement possible.

La réaction chimique peut être décrite comme :



D'autre part, il est souhaitable que les expériences donnent le maximum d'informations avec un nombre limité d'essais. La question se pose alors d'établir une méthode de synthèse efficace des différents intermédiaires afin d'arriver au produit attendu.

À partir de ce constat, plusieurs variables expérimentales peuvent influencer la réaction chimique. Il est donc important de déterminer les effets directs des différentes variables telles que le pH, la température, la concentration des réactifs, catalyseur, etc. et les effets résultants des interactions possibles entre elles. La qualité des informations mesurées par les réponses obtenues (le rendement, la sélectivité...) dépend de l'ensemble des résultats de différents essais. L'expérimentateur cherche alors comment sélectionner les expériences à faire et quelle est la meilleure stratégie pour :

- Conduire le plus rapidement possible aux résultats espérés.
- Éviter des expériences inutiles.
- Apporter une bonne précision.
- Conduire à l'optimisation et à la modélisation des phénomènes étudiés.

Les méthodes rigoureuses d'expérimentation basées sur l'utilisation des plans d'expérience sont dues aux travaux de Sir Ronald Fisher (1890-1962).³³³ Ce brillant mathématicien, très productif dans le domaine des statistiques, s'est intéressé aux techniques d'expérimentation suite à son embauche, en 1919, dans un centre de recherche agronomique situé au nord de Londres. Il cherche alors à augmenter les rendements agricoles en combinant divers types d'engrais, de variétés végétales, de méthodes de cultures, de types de sols, *etc...* Face à l'impossibilité de réaliser toutes les expériences nécessaires, il a été amené à proposer des configurations expérimentales basées sur des modèles statistiques rigoureux. Ceci constitue le point de départ de la méthode théorique des plans d'expérience. La méthode des plans d'expériences a été adaptée à des expériences industrielles dans les années 1940-1950 par Box et collaborateurs.

L'approche traditionnelle, encore utilisée par la plupart des chimistes et parfois dénommée « la règle de un par un », implique la variation systématique d'une seule variable à la fois (a, puis b, puis c) au cours de l'optimisation (Figure 43 (a)).

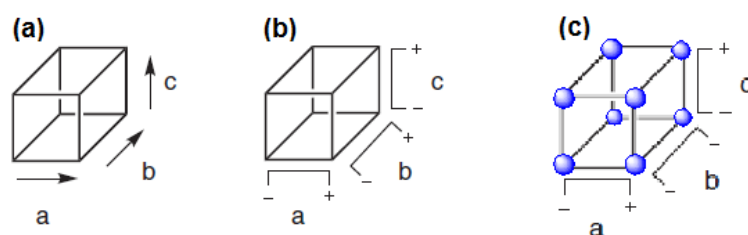


Figure 43: Vue tridimensionnelle de l'espace expérimental (a): optimisation traditionnelle "un par un" (b): optimisation avec un plan d'expérience, (c) chaque point correspondant à une expérience.

Les axes de l'espace réactionnel définissent les variations de la nature des différents constituants du système réactionnel, comme les réactifs, le solvant et le pourcentage de catalyseur, *etc...* Dans l'approche traditionnelle, une seule variable par exemple "a" est susceptible d'être modifiée pendant que "b" et "c" restent constantes. Puis avec la variable "a" fixée à sa réponse maximum, l'optimisation des deux autres variables "b" et "c" est effectuée de la même manière "b" varie pendant que "a" et "c" sont fixées....) afin de découvrir une combinaison « optimale » des conditions opératoires. Bien que cette approche soit souvent satisfaisante, ce n'est pas la méthode la plus efficace permettant d'explorer l'espace expérimental.

³³³ R. A. Fisher, "The design of experiments" (1935) Edimbourg, Oliver & Boyd Eds.,

Une approche plus efficace consiste à utiliser la technique des «plans d'expériences»³³⁴ (DoE ou Design of Experiment) qui vise à obtenir le maximum d'information des expériences tout en minimisant leur nombre. Dans les plans d'expériences, les variables sont tout d'abord examinées afin de déterminer lesquelles sont importantes pour le résultat, puis suit une «optimisation» où les meilleurs réglages pour les variables importantes sont déterminés. En particulier, les méthodes de plan factoriel (Figure 43, (b)) et de surface de réponse (Figure 44) sont les plus utilisées. Par exemple, la conception d'un plan factoriel de deux niveaux (+ et -) et trois variables (a, b et c) (Figure 43, (b)) nécessite de sélectionner les paramètres de niveau haut et de niveau bas pour chaque variable (Figure 43 (b)).³³⁵ Des expériences sont ensuite exécutées pour toutes les combinaisons possibles de ces niveaux, ce qui est représenté par les 8 sommets du cube (Figure 43 (c)). De cette façon, on pourra estimer l'effet de chaque variable et l'interaction éventuelle entre les variables. Pour une étude de 2 niveaux (+ et -) à trois variables (a, b et c), un total de huit expériences seulement est nécessaire pour couvrir l'espace expérimental (Figure 43, (c)) et les données peuvent ensuite servir à générer un graphique de surface de réponse (Figure 44).³³⁶

Par exemple, pour optimiser les conditions de greffage d'une résine mesurée par sa charge (Figure 44 (a)), un plan à deux facteurs a été utilisé et représenté dans un espace à trois dimensions: une dimension pour la réponse (ici charge de la résine en mmol/g), deux dimensions pour les autres facteurs (ici température et ratio de solvant). Les conditions optimales sont clairement 80 °C et un ratio de solvant de 50%. L'interaction entre ces deux variables est indiquée par la non-planéité de la surface de réponse. Très probablement, ces conditions optimales auraient été difficilement atteignables en 8 expériences par la méthode traditionnelle «un par un»! La méthode des plans d'expérience permet de répondre à ces exigences pendant le développement d'une nouvelle méthode de synthèse.³³⁷ Cette méthode permet d'identifier les facteurs expérimentaux les plus influents sur le résultat et comment on peut ajuster ces facteurs qui sont indépendants ou non.

334 R. Carlson, *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **2004**, 73, 151-166.

335 M. O'Brien, R. Denton, S. V. Ley, *Synthesis*, **2011**, 8, 1157-1192.

336 O. W. Gooding, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2004**, 8, 297-304.

337 J. Goupy, Plans d'expériences, Techniques de l'Ingénieur, P230.

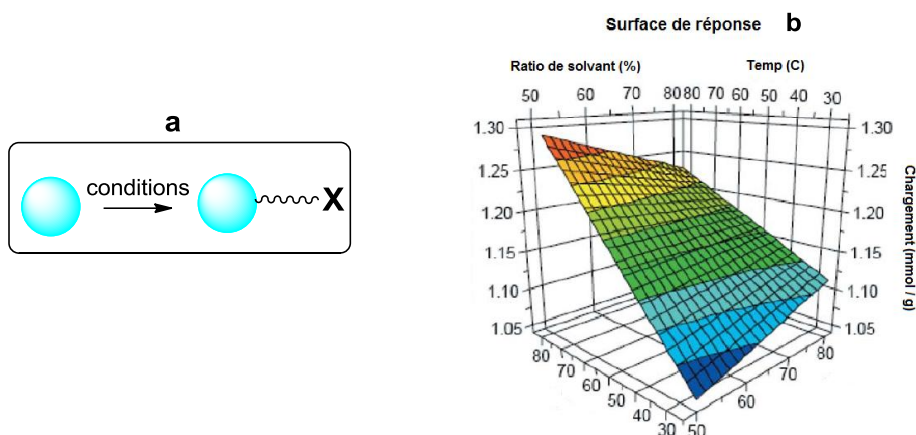


Figure 44 : Réaction de greffage d'une résine (a) et graphique de surface de réponse (charge de la résine en mmol/g) en fonction de la température et de la composition du solvant(b).

Un plan d'expériences peut être utilisé également comme une étape préliminaire à l'optimisation. Il a alors pour objectif le choix des variables à optimiser et des fonctions à prendre en compte pour résoudre le problème, dans une formulation mathématique classique.³³⁸

Pour la mise en œuvre du plan d'expérience, il faudra définir les différents paramètres :

- La réponse (y) est la grandeur à laquelle on s'intéresse; son choix est souvent le rendement et/ou la pureté.
- Les facteurs (x_1, x_2, \dots, x_n) sont les variables qui peuvent être continues (par exemple la température) ou discrètes (par exemple un catalyseur), elles sont qualitatives (pas de logique de classement) ou quantitatives.
- Les niveaux sont les valeurs prises par un facteur dans les expériences. Dans le cas de variables discrètes, on utilise par exemple les niveaux «haut» (noté +1) et «bas» (noté -1).

La méthode classique du "un par un" consiste à fixer les niveaux de toutes les variables sauf une (ex : x_1) à laquelle on donne plusieurs valeurs successivement. La mesure de la réponse donne une courbe $y = f(x_1)$, puis il convient de recommencer pour chaque facteur. Ainsi, l'analyse à 5 niveaux de 7 facteurs nécessiterait de faire (5^7) soit 78125 expériences pour couvrir le domaine expérimental et pour 3 niveaux pour chacun des 7 facteurs, il faudrait encore faire (3^7) soit 2187 expériences.

Pour diminuer le nombre d'expériences, il faut faire varier les niveaux de tous les facteurs à la fois à chaque expérience, ce que permet le plan d'expérience. Cette technique

³³⁸ J. Goupy, Dunod, Paris. Introduction aux plans d'expériences. 2001

permet donc d'étudier un grand nombre de facteurs, de détecter les interactions éventuelles entre certains facteurs, et de trouver les facteurs influents. Pour cela, au départ, le nombre de niveaux sera généralement fixé à 2 niveaux seulement par facteur, un niveau "bas" (-1) et un niveau "haut" (+1). Pour 7 facteurs cela représente 128 expériences soit (2^7).

La représentation graphique (géométrique) décrit à la fois le domaine de variation d'un facteur, l'espace expérimental, le domaine d'étude et chaque expérience est représentée par 1 point (Figure 45).

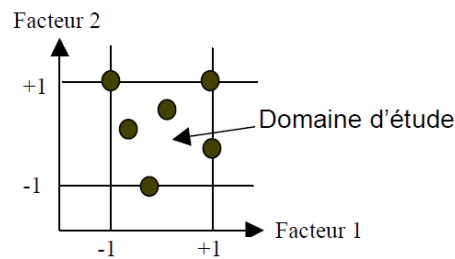


Figure 45 : Graphique du domaine de variation de 2 facteurs, de l'espace expérimental, du domaine d'étude et de chaque expérience représenté par 1 point

Ainsi, le plan d'expérience définit une liste d'expériences avec les combinaisons de niveaux des facteurs x_n pour lesquels la réponse y du modèle doit être observée. La surface de réponse est l'ensemble des réponses correspondant à tous les points du domaine, à partir desquels une approximation est construite, sous forme d'un modèle mathématique f (équation pour un modèle postulé, approximation) de la réponse y .

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$$

Il existe de différents types de plans d'expérience :

a1) les plans de criblage permettent de rechercher l'influence de tel ou tel facteur sur les performances d'un produit ou d'un procédé en réduisant considérablement le nombre d'expériences à réaliser par rapport aux méthodes empiriques traditionnellement employées facteur par facteur.

a2) Les plans de modélisation ils sont les plus utilisés et les mieux adaptés pour l'optimisation. Les plans d'expériences ne font pas tous appel à des surfaces de réponse: les plus simples utilisent seulement 2 niveaux (réponse linéaire), et la notion de surface de réponse n'apparaît pas explicitement, comme dans les plans fractionnaires qui sont plus simples, mais ont quand même de nombreuses applications.

a3) Les plans factoriels complets/fractionnaires

Les plans factoriels complets à deux niveaux sont les plus simples et les plus utiles, car ils forment la base de tous les débuts d'études et toutes les combinaisons des niveaux de facteurs sont présentes. Mais pour que les résultats de tels plans soient correctement interprétés, il faut connaître la théorie des aliases, théorie que nous allons décrire en nous appuyant sur un plan 2^3 utilisé par la suite. Ces plans peuvent être utilisés à des niveaux supérieurs, mais le nombre d'expériences devient alors plus important (27, 64, 125 etc).

Les plans factoriels fractionnaires à deux niveaux sont très utiles, car ils permettent de diminuer considérablement le nombre d'essais du plan complet en ne conservant que les expériences qui décrivent au mieux l'espace expérimental (Figure 46). Pour 3 variables, 4 expériences seraient nécessaires, mais alors l'approximation devient plus grande. Ils sont surtout utilisés pour un grand nombre de variables ou de niveaux.

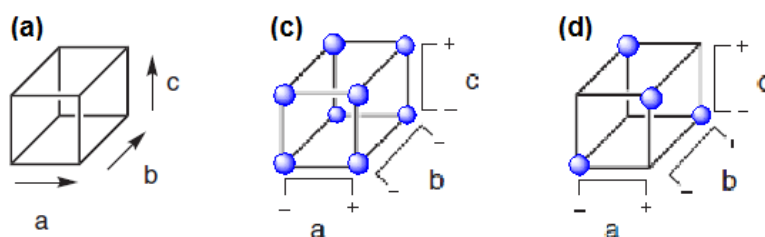


Figure 46: Vue tridimensionnelle de l'espace expérimental avec un plan d'expérience à 2 niveaux de 3 variables de type factoriel complet (c), ou factoriel fractionnaire (d).

2) Résultats expérimentaux

Nous voulons étudier l'influence des différents facteurs (catalyseur, ligand, base, solvant, température, nombre d'équivalents d'oléfine) sur le rendement de cette réaction de Heck en utilisant la méthode des plans d'expérience (Tableau 21). Une fois le modèle choisi, il faut déterminer quelles sont les combinaisons des facteurs (variable) qui feront l'objet d'expériences. Le choix doit être fait pour obtenir des expériences faites donnant la meilleure information possible. Nous avons choisi d'appliquer la méthode de plan factoriel complet dans notre étude de l'influence des facteurs sur le couplage de Heck. Lors de la réalisation d'un plan d'expérience à deux niveaux, le nombre d'expériences à réaliser augmente d'une manière significative avec le nombre de variables prises en compte. Les variables retenues dans un premier temps et leurs niveaux sont donnés dans le tableau suivant:

Tableau 21: Variables retenues pour l'optimisation de la réaction de Heck entre les composés **626** et **641** sous micro-ondes (Les facteurs de plan d'expérience), (dppf = diphénylphosphinoferrocène).

Variable	Niveau -1	Niveau +1
1: Catalyseur	Pd(OAc) ₂	PdCl ₂
2: % de catalyseur	5 %	10 %
3: Ligand	PPh ₃	dppf
4: Solvant de la réaction	DMF	Toluène
5: Température de la réaction	100 °C	150 °C
6: Nombre d'équivalents d'oléfine	1	2
7 : Base	Cy ₂ NMe	NaOAc

Donc avec un plan factoriel complet, pour 7 variables (de 1 à 7), nous devrions faire $2^7 = 128$ expériences. Nous pourrions faire seulement $2^{7-4} = 8$ expériences pour étudier l'influence des variables de cette réaction de Heck. Il nous faudra étudier 3 facteurs A, B et C ($2^3 =$ plan factoriel complet) et leur combinaison pour les 4 autres facteurs (D à G). Pour ces trois variables A, B et C, nous avons choisi le catalyseur (A), le ligand (B), et la base (C) critiques pour tout couplage de Heck !

La matrice d'expérience d'un plan « 2^3 » comporte 3 colonnes (n : 3, 4 et 5) dans lesquelles nous plaçons les trois premières variables A, B et C 10 (Tableau 22). Pour placer la quatrième variable D (colonne 6), nous décidons de l'aliaser avec l'interaction d'ordre la plus élevé du plan 2^3 , c'est-à-dire l'interaction ABC. Nous obtenons l'alias D = ABC qui nous permet de déterminer le générateur d'alias I = DABC (colonne 2). I est par ailleurs la moyenne des effets et correspond à la première colonne de la matrice d'expériences pour laquelle tous les signes attribués sont positifs, en effet: D = ABC.

Dans ce plan de base, on choisit une colonne de signes correspondant à une interaction pour étudier le facteur supplémentaire. Pour chaque essai N, on attribue à ce facteur les niveaux indiqués par les signes de l'interaction choisie. En notation de Box, on écrira que le facteur 4 est étudié sur les signes de l'interaction D = ABC (colonne 6), E = AB (colonne 7), F = BC (colonne 8), G = AC (colonne 9) et l'on sait que le contraste ainsi calculé est la somme de l'effet du facteur 4 augmenté de l'interaction entre les facteurs A et B.

Tableau 22: Matrice d'expériences pour la réaction de Heck modèle dans le toluène (Schéma 110). Conditions : échelle : 0,77 mmol **626**, Pd : 5 % molaire, base 8 équivalents, toluène 0,8 mL, MO (60 W, 150 °C, 20 min).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Numéros d'essais	I	A	B	C	D ABC	E AB	F BC	G AC	Réponse y %
1	+	-	-	-	-	+	+	+	51
2	+	+	-	-	+	-	+	-	91
3	+	-	+	-	+	-	-	+	70
4	+	+	+	-	-	+	-	-	69
5	+	-	-	+	+	+	-	-	10
6	+	+	-	+	-	-	-	+	4
7	+	-	+	+	-	-	+	-	3
8	+	+	+	+	+	+	+	+	82
Effet	47,5	13,75	8,5	22,75	15,75	5,5	9,25	4,25	
Niveau +1		PdCl ₂	dppf	NaOAc					
Niveau -1		Pd(OAc) ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe					

Si l'on prend la matrice du calcul des effets d'un plan 2^3 comme plan de base, on a quatre interactions disponibles: AB, AC, BC (binaires) et ABC (ternaire). La réponse étudiée nommée y, ici le rendement de la réaction, est donnée par l'expérience et est consignée dans le tableau suivant à la colonne 10 (Tableau 22).

Nous avons alors réalisé les 8 expériences ou essais (N = 1 à 8) déterminés par cette matrice d'expérience en prenant les variables 1 pour le facteur A, 3 pour le facteur B et 7 pour le facteur C telles que déterminées dans le tableau 21. Ainsi, pour l'essai N = 1 le système réactionnel sera composé de Pd(OAc)₂ (catalyseur au niveau -1), PPh₃ (ligand au niveau -1) et Cy₂NMe (base au niveau -1), et ainsi de suite jusqu'à l'essai 8.

Nous avons remarqué que les milieux réactionnels dans lesquels l'acétate de sodium était utilisé n'étaient pas homogènes. Et les rendements des essais 5-7 étaient faibles (3-10%). Nous avons donc décidé d'utiliser un meilleur solvant pour cette base minérale, l'eau, pour voir si nous obtenirions une meilleure efficacité. L'eau est un solvant non-toxique, non inflammable, facilement disponible et peu coûteux.

De plus, en raison de sa nature polaire, l'eau est un excellent solvant, particulièrement approprié pour la synthèse organique assistée sous micro-ondes et est aujourd'hui largement utilisée dans des transformations organiques comme en témoigne le nombre croissant de

publications figurant dans la bibliographie chaque année.³³⁹ Pour cela, et en raison du faible rendement obtenu en présence du toluène dans les essais 5, 6 et 7 présentés dans le tableau 22, nous avons décidé de reprendre ces essais en présence d'eau qui devrait solubiliser la base inorganique, l'acétate de sodium, peu soluble dans le toluène. Nous avons repris les essais 5, 6 et 7 dans l'eau et nous avons constaté une nette amélioration du rendement de la réaction, passant de 3-10% dans le toluène à 44-55% dans l'eau. L'essai 8 effectué dans le toluène avec l'acétate de sodium avait conduit à un bon rendement de 82%. Nous avons donc cherché à savoir si celui-ci serait encore amélioré en présence d'eau. Malheureusement, le rendement de cet essai 8 dans l'eau (53%) est inférieur à celui obtenu dans le toluène (82%). Finalement, nous avons décidé d'étudier tous les essais dans l'eau (Tableau 23) afin de mieux comparer les résultats des deux systèmes.

Ces résultats expérimentaux nous montrent que c'est l'essai 3 qui fournit le meilleur résultat dans l'eau (Tableau 23), alors que c'est l'essai 2 qui fournit le meilleur résultat dans le toluène (Tableau 22). Nous avons changé le toluène par de l'eau, afin de mieux solubiliser la base inorganique, l'acétate de sodium. En fait, pour ces deux meilleurs essais, la base utilisée est la même, la dicyclohexylméthylamine, quelque soit le solvant.

Tableau 23 : Matrice d'expériences pour la réaction de Heck modèle dans l'eau (Schéma 110). Conditions : échelle : 0,77 mmol **626**, Pd : 5% molaire, base 8 équivalents, eau 0,8 mL, MO (60 W, 150 °C, 20 min).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
N essai	I	A	B	C	D ABC	E AB	F BC	G AC	Réponse y %
1	+	-	-	-	-	+	+	+	17
2	+	+	-	-	+	-	+	-	77
3	+	-	+	-	+	-	-	+	85
4	+	+	+	-	-	+	-	-	19
5	+	-	-	+	+	+	-	-	55
6	+	+	-	+	-	-	-	+	51
7	+	-	+	+	-	-	+	-	44
8	+	+	+	+	+	+	+	+	53
Effet	50,12	-0,13	0,13	0,63	17,37	-18,38	-6,63	-2,27	
Niveau +1		PdCl ₂	dppf	NaOAc					
Niveau -1		Pd(OAc) ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe					

339 C-J. Li, *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 3095.

Ces tableaux (Tableau 22, Tableau 23) permettent de déterminer une estimation ponctuelle de chacun des facteurs du modèle et de dégager l'effet de leurs interactions lorsqu'elles existent, grâce aux calculs de ces effets.

3) Calcul des effets

Isoler l'effet de chaque facteur ne rend pas toujours compte de l'ensemble du phénomène. Il arrive que l'un des facteurs renforce l'effet de l'autre. Cela traduit une interaction entre les deux facteurs. Le phénomène étudié est dit sous l'effet de diverses actions: l'action globale, l'action de chaque facteur et l'action de chaque interaction.

Dans le cas qui nous concerne, nous avons trois facteurs prenant chacun deux niveaux (-1 et +1), chaque action a un degré de liberté, elle est caractérisée par un seul paramètre. L'effet global a_n du facteur n est naturellement la moyenne de toutes les réponses obtenues, multipliée par le signe de la matrice d'expérience correspondant. Il y a alors huit paramètres pour décrire le système: $a_0, a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6, a_7$. Si des programmes permettent d'obtenir directement ces différentes valeurs, elles sont facilement accessibles en quelques calculs.

Cet effet global a_0 sera noté pour la moyenne des effets (I) qui ne comporte que des signes positifs par l'équation suivante et reporté dans les tableaux 22 et 23 dans la colonne 2 :

$$a_0 = (y_1 + y_2 + y_3 + y_4 + y_5 + y_6 + y_7 + y_8) / 8$$

Les effets des facteurs, et ceux des interactions sont calculés de la même façon en affectant à chaque réponse (rendement) le signe donné par la matrice d'expérience (Tableaux 22 ou 23, p 174-175).

a) Effet des facteurs dans le toluène

L'estimation ponctuelle de chaque effet en présence de toluène est ainsi calculée:

Effet moyen des facteurs :

Pour I (moyenne): $a_0 = (51 + 91 + 70 + 69 + 10 + 4 + 3 + 82) / 8 = 47,5$

Effet principal de chaque facteur :

Pour A (catalyseur) $a_1 = (-51 + 91 - 70 + 69 - 10 + 4 - 3 + 82) / 8 = 13,75$

Pour B (ligand) $a_2 = (-51 - 91 + 70 + 69 - 10 - 4 + 3 + 82) / 8 = 8,5$

Pour C (base) $a_3 = (-51 - 91 - 70 - 69 + 10 + 4 + 3 + 82) / 8 = 22,75$

Effet des interactions :

Pour D (ABC) $a_4 = (-51 + 91 + 70 - 69 + 10 - 4 - 3 + 82) / 8 = 15,75$

Pour E (AB) $a_5 = (51 - 91 - 70 + 69 + 10 - 4 - 3 + 82) / 8 = 5,5$

Pour F (BC) $a_6 = (51 + 91 - 70 - 69 - 10 - 4 + 3 + 82) / 8 = 9,25$

Pour G (AC) $a_7 = (51 - 91 + 70 - 69 - 10 + 4 - 3 + 82) / 8 = 4,25$

Les valeurs des effets sont reportées dans le tableau 22 (Effet). On remarque que le facteur le plus influent est la base C (22,75) qui représente pratiquement la moitié de la valeur moyenne des effets (47,5). Le deuxième facteur le plus important, D (15,75), est celui de l'interaction d'ordre 3 ABC ou catalyseur-ligand-base, ce qui veut dire que l'on ne peut pas optimiser chaque facteur séparément dans le toluène.

b) Effet des facteurs dans l'eau

De la même façon, en reprenant les variables de réponse, les rendements des essais 1 à 8, reportés dans le tableau 23, p 189) et leur affectant le signe donné par la matrice d'expérience, on accède après avoir divisé la somme totale par le nombre de valeurs considérées (ici 8): l'estimation ponctuelle de ces facteurs dans l'eau donne :

Effet moyen des facteurs :

Pour I (moyenne): $a_0 = 17 + 77 + 85 + 19 + 55 + 51 + 44 + 53 / 8 = 50,12$

Effet principal de chaque facteur :

Pour A (catalyseur) $a_1 = -17 + 77 - 85 + 19 - 55 + 51 - 44 + 53 / 8 = -0,13$

Pour B (ligand) $a_2 = -17 - 77 + 85 + 19 - 55 - 51 + 44 + 53 / 8 = 0,13$

Pour C (base) $a_3 = -17 - 77 - 85 - 19 + 55 + 51 + 44 + 53 / 8 = 0,63$

Effet des interactions :

Pour D (ABC) $a_4 = -17 + 77 + 85 - 19 + 55 - 51 - 44 + 53 / 8 = 17,37$

Pour E (AB) $a_5 = 17 - 77 - 85 + 19 + 55 - 51 - 44 + 53 / 8 = -18,37$

Pour F (BC) $a_6 = 17 + 77 - 85 - 19 - 55 - 51 + 44 + 53 / 8 = -6,63$

Pour G (AC) $a_7 = 17 - 77 + 85 - 19 - 55 + 51 - 44 + 53 / 8 = -2,87$

Les valeurs des effets sont reportées dans le tableau 23 (Effet).

c) Discussion

On remarque que la moyenne des effets dans l'eau (50,12) est du même ordre que celle obtenue dans le toluène (47,5). Les facteurs les plus influents dans l'eau sont le facteur D, soit l'interaction d'ordre 3 ABC (17,37), ou interaction catalyseur-ligand-base, et le facteur E, l'interaction d'ordre 2, AB (-18,38), ou interaction catalyseur-ligand. Le troisième facteur le plus important est F (-6,62) celui de l'interaction d'ordre 2 BC (ligand-base), ce qui veut dire que l'on ne pourra pas non plus optimiser chaque facteur séparément dans l'eau. Les effets ponctuels du catalyseur, de la base et du ligand séparément sont négligeables dans l'eau alors qu'ils sont notables dans le toluène (Tableau 24).

Tableau 24 : Effets comparés de la moyenne des effets I et des facteurs et pour la réaction de Heck modèle dans le toluène et l'eau.

Solvant	Toluène	Eau
I effet moyen	47,5	50,12
A (catalyseur)	13,75	-0,13
B (ligand)	8,5	0,13
C (base)	22,75	0,63
D (ABC)	15,75	17,37
E (AB)	5,5	-18,38
F (BC)	9,25	-6,62
G (AC)	4,25	-2,27

d) Calcul de l'effet global et de l'effet moyen

Après avoir calculé les effets des facteurs, et ceux de leurs interactions, nous nous intéressons maintenant à l'effet global moyen des facteurs. Autrement dit, l'effet global d'un facteur est la variation de la réponse quand le facteur passe du niveau -1 au niveau +1, et l'effet moyen est défini comme étant la moitié de l'effet global. Ces effets sont calculés en prenant la somme des valeurs de rendement obtenus pour chaque facteur à son niveau -1 (4 valeurs) pondérée (/4) et la somme des valeurs de rendements obtenus au niveau +1, également pondérée (/4) (Tableaux 25 et 26).

On retrouve ces valeurs d'effet moyen obtenues par les calculs des effets de chaque facteur, calculés précédemment et reportés dans les tableaux 22 et 23.

Tableau 25: Effets global et effet moyen des facteurs en présence de toluène			
	A (Catalyseur)	B (Ligand)	C (Base)
Niveau -1	$51+70+10+3/4 =$ 33,5	$51+91+10+4/4 =$ 39	$51+91+70+69/4 =$ 70,25
Niveau +1	$91+69+4+82/4 =$ 61,5	$70+69+3+82/4 =$ 56	$10+4+3+82/4 =$ 24,25
Effet global*	28	17	-45,5
Effet moyen*	14	8,5	22,75

* Effet global = Ecart +1/-1, * Effet moyen = la moitié de l'effet global.

Tableau 26: Effets global et effet moyen des facteurs en présence d'eau			
	A (Catalyseur)	B (Ligand)	C (Base)
Niveau -1	$17+85+55+44/4 =$ 50,25	$17+77+55+51/4 =$ 50	$17+77+85+19/4 =$ 49,5
Niveau +1	$77+19+51+53/4 =$ 50	$85+19+44+53/4 =$ 50,25	$55+51+44+53/4 =$ 50,75
Effet global*	-0,25	0,25	1,25
Effet moyen*	-0,13	0,13	0,63

* Effet global = Ecart +1/-1, * Effet moyen = la moitié de l'effet global.

La représentation graphique des effets des facteurs et des interactions entre les facteurs (Figures 44 et 45) se fait simplement à partir du tableau des réponses globales (y1 à y8) aux différents niveaux (-1 et +1) des facteurs (Tableaux 22 et 23) et comme précédemment, on reporte les valeurs en fonction des facteurs A, B ou C et des valeurs obtenues par la matrice d'expérience pour analyser les résultats (Tableaux 25 et 26).

Il ressort du tableau de calcul des effets (Tableau 25) et de ce graphe (Figure 47) que l'effet du facteur C (la base) est plus important que celui de A (Pd) et de B (ligand). Par analogie avec la méthode d'optimisation du "un par un" ce graphe pourrait conduire à préconiser l'utilisation de PdCl₂ (niveau +1 du facteur A, le catalyseur, conduisant à la meilleure réponse, le rendement) et le point le plus haut sur le graphique, le dppf (+1 de B) et la base Cy₂NMe (-1 de C) pour obtenir le meilleur rendement. Le choix de ces facteurs (+,+, -) correspond à l'essai 4 qui a fourni le produit **642** avec un rendement de 69%. Cependant le

meilleur essai, l'essai 2 (+,+,-), a fourni le produit de couplage avec un rendement de 91% en utilisant PdCl_2 (+1), PPh_3 (-1) et Cy_2NMe (-1), ce qui montre bien que l'optimisation des facteurs séparément (essai 4) ne permet pas d'obtenir au meilleur résultat, alors que la méthode statistique utilisée ici a permis une meilleure exploration de l'espace réactionnel, et a permis un gain de 22% en rendement, soit 32% d'amélioration.

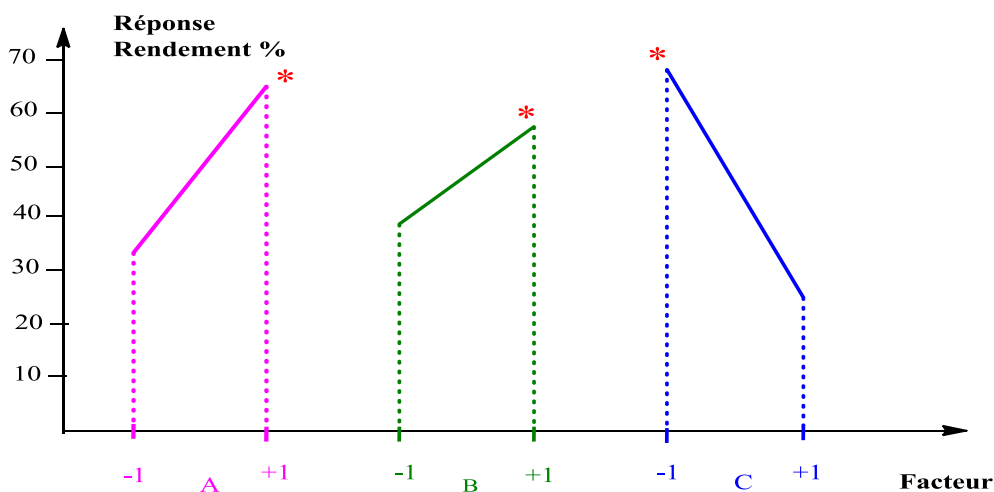


Figure 47 : Graphe de l'effet des facteurs pour la réaction de Heck modèle en présence de toluène

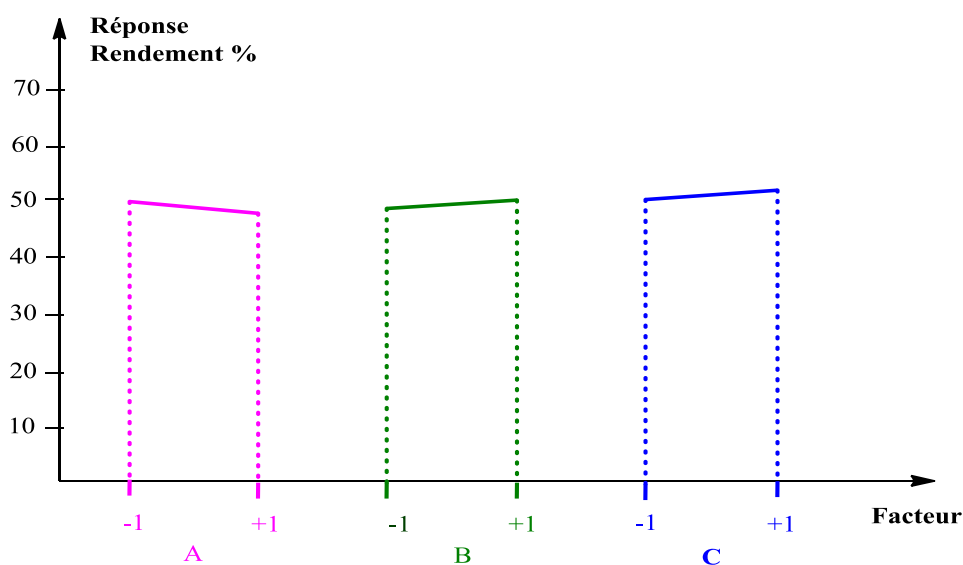


Figure 48: Graphe de l'effet des facteurs en présence d'eau

Le graphe de l'interaction des facteurs pour la réaction dans l'eau (Figure 48) montre que la variation des valeurs des effets lorsque les niveaux des facteurs passe de -1 à +1 est plus faible (de -0,25 à +1,25) que celle observée dans le toluène (de -45,5 à 28), ce graphe conduit à préconiser l'utilisation de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (-1 de A), de dppf (+1 de B) et de NaOAc (+1 de C) pour obtenir le meilleur rendement. Le choix de ces facteurs correspond à l'essai 7 qui a fourni le produit avec 44% de rendement, alors que le meilleur essai, l'essai 3 a fourni ce produit avec un rendement de 85% en utilisant $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (-1), dppf (+1) et Cy_2NMe (-1) ! Cette différence de résultat entre les interprétations du plan d'expérience "un par un", et l'expérience, elle même peut à nouveau s'expliquer par l'importance très forte des interactions entre les facteurs dans cette réaction de Heck, et l'importance plus faible de chaque facteur A, B ou C pris séparément.

4) Interaction des facteurs A, B et C

Dans le cas de deux variables, l'effet global et les effets de chaque facteur ne fournissent pas la description complète du phénomène étudié. On introduit alors l'interaction entre deux facteurs. Il en est de même ici. Pour analyser l'interaction entre 3 facteurs, si on fixe le facteur 3 (C) à une valeur donnée, on obtient alors un système à deux facteurs et on peut alors calculer leur interaction (Tableaux 27 et 28).

La demi-différence entre les deux interactions calculées, l'une quand C est au niveau +1, l'autre quand C est au niveau -1, mesure l'influence de C sur l'interaction AB. Cela définit l'interaction ABC des trois facteurs. Elle est cohérente, car le rôle particulier joué par le facteur 3 n'est qu'apparent. On obtiendrait le même résultat en mesurant les variations de AC quand B passe du niveau -1 au niveau 1 ou de BC quand A passe du niveau -1 au niveau 1. Un calcul simple montre que l'on peut définir l'effet de l'interaction d'ordre C quand les facteurs sont aux niveaux respectifs. La même logique s'applique à trois variables et à leurs interactions.

Comme pour les calculs précédents, dans la somme considérée, on affecte à chaque réponse, le signe qui lui correspond dans la matrice d'expérience. On change de signe à chaque fois qu'un niveau d'un des facteurs varie (-1 à +1). L'interaction d'ordre 3 est décrite par un paramètre, ici D; son nombre de degré de liberté est 1.

L'estimation ponctuelle de chaque effet est :

a) Effet Moyen du facteur A (catalyseur)

- Au niveau haut (+1) de C (base), l'effet moyen du facteur A (catalyseur) est :

Dans le toluène :

$$y_7 - y_8 / 2 = 3 - 82 / 2 = -39,5 \quad \text{pour le niveau haut (+1) du facteur B (ligand)}$$

$$y_5 - y_6 / 2 = 10 - 4 / 2 = 3 \quad \text{pour le niveau bas (-1) du facteur B (ligand)}$$

Dans l'eau:

$$y_7 - y_8 / 2 = 44 - 53 / 2 = -4,5 \quad \text{pour le niveau haut (+1) du facteur B (ligand)}$$

$$y_2 - y_4 / 2 = 55 - 51 / 2 = 2 \quad \text{pour le niveau bas (-1) du facteur B (ligand)}$$

- Au niveau bas (-1) de C (base), l'effet moyen du facteur A (catalyseur) est :

Dans le toluène :

$$y_3 - y_4 / 2 = 70 - 69 / 2 = 0,5 \quad \text{pour le niveau haut (+1) du facteur B (ligand)}$$

$$y_1 - y_2 / 2 = 51 - 91 / 2 = -20 \quad \text{pour le niveau bas (-1) du facteur B (ligand)}$$

Dans l'eau:

$$y_3 - y_4 / 2 = 85 - 19 / 2 = 33 \quad \text{pour le niveau haut (+1) du facteur B (ligand)}$$

$$y_1 - y_2 / 2 = 17 - 77 / 2 = -30 \quad \text{pour le niveau bas (-1) du facteur B (ligand)}$$

b) Effet Moyen du facteur B (ligand)

- Au niveau haut (+1) de A (catalyseur), l'effet moyen du facteur B (ligand) est :

Dans le toluène :

$$y_8 - y_6 / 2 = 82 - 4 / 2 = 39 \quad \text{pour le niveau haut (+1) du facteur C (base)}$$

$$y_2 - y_4 / 2 = 91 - 69 / 2 = 11 \quad \text{pour le niveau bas (-1) du facteur C (base)}$$

Dans l'eau:

$$y_8 - y_6 / 2 = 53 - 51 / 2 = 1 \quad \text{pour le niveau haut (+1) du facteur C (base)}$$

$$y_2 - y_4 / 2 = 77 - 19 / 2 = 29 \quad \text{pour le niveau bas (-1) du facteur C (base)}$$

- Au niveau bas (-1) de A (catalyseur), l'effet moyen du facteur B (ligand) est :

Dans le toluène :

$$y_1 - y_3 / 2 = 51 - 70 / 2 = -9,5 \quad \text{pour le niveau (-1) du facteur C (base)}$$

$$y_5 - y_7 / 2 = 10 - 3 / 2 = 3,5 \quad \text{pour le niveau bas (+1) du facteur C (base)}$$

Dans l'eau:

$$y_1 - y_3 / 2 = 17 - 85 / 2 = -34 \quad \text{pour le niveau } (-1) \text{ du facteur C (base)}$$

$$y_5 - y_7 / 2 = 55 - 44 / 2 = 5,5 \quad \text{pour le niveau bas } (+1) \text{ du facteur C (base)}$$

c) Effet Moyen du facteur C (base)

- Au niveau bas (-1) de B (ligand), l'effet moyen de C (base) est :

Dans le toluène :

$$y_1 - y_5 / 2 = 51 - 10 / 2 = 20,5 \quad \text{pour le niveau } (-1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

$$y_2 - y_6 / 2 = 91 - 4 / 2 = 43,5 \quad \text{pour le niveau } (+1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

Dans l'eau:

$$y_1 - y_5 / 2 = 17 - 55 / 2 = -19 \quad \text{pour le niveau } (-1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

$$y_2 - y_6 / 2 = 77 - 51 / 2 = 26 \quad \text{pour le niveau } (+1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

- Au niveau haut (+1) de B (ligand), l'effet moyen de C (base) est :

Dans le toluène:

$$y_3 - y_7 / 2 = 70 - 3 / 2 = 33,5 \quad \text{pour le niveau } (-1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

$$y_4 - y_8 / 2 = 69 - 82 / 2 = -6,5 \quad \text{pour le niveau } (+1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

Dans l'eau:

$$y_3 - y_7 / 2 = 85 - 44 / 2 = 20,5 \quad \text{pour le niveau } (-1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

$$y_4 - y_8 / 2 = 19 - 53 / 2 = -17 \quad \text{pour le niveau } (+1) \text{ du facteur A (catalyseur)}$$

Ces valeurs ont été reportées dans le tableau 27 pour les essais conduits dans le toluène et dans le tableau 28 pour les essais dans l'eau. La représentation graphique des effets d'interaction entre deux facteurs se fait simplement à partir de ces tableaux (Figure 49).

Dans chacun des trois graphes de la Figure 46, un des deux segments représente les variations de la réponse théorique (rendement théorique) quand on passe du niveau -1 au niveau +1 pour le premier facteur, le deuxième étant au niveau -1.

La demi-différence entre les deux interactions calculées, l'une quand C est au niveau +1, l'autre quand C est au niveau -1, mesure l'influence de C sur l'interaction AB. Cela définit l'interaction ABC des trois facteurs.

Par exemple, l'influence de C, la base, sur l'interaction AB (catalyseur-ligand) est illustrée par le graphique de l'effet moyen de A (Figure 49) par le segment coloré (la demi-

différence entre les deux interactions calculées, l'une quand C est au niveau +1, l'autre quand C est au niveau -1).

Tableau 27 : Interaction des facteurs deux à deux pour la réaction de Heck modèle dans le toluène.

Interaction des facteurs deux à deux (Essais dans le toluène)					
Interaction AB (catalyseur-ligand)					
C niveau -1	B niveau -1	B niveau +1	C niveau +1	B niveau -1	B niveau +1
A niveau -1	51	70	A niveau -1	10	3
A niveau +1	91	69	A niveau +1	4	82
Effet (Ecart)	40	1	Effet (Ecart)	6	79
Effet moyen	20	0,5	Effet moyen	3	39,5
Interaction BC (ligand-base)					
A niveau -1	C niveau -1	C niveau +1	A niveau +1	C niveau -1	C niveau +1
B niveau -1	51	10	B niveau -1	91	4
B niveau +1	70	3	B niveau +1	69	82
Effet (Ecart)	-19	7	Effet (Ecart)	22	78
Effet moyen	-9,5	3,5	Effet moyen	11	39
Interaction AC (catalyseur-base)					
B niveau -1	A niveau -1	A niveau +1	B niveau +1	A niveau -1	A niveau +1
C niveau -1	51	91	C niveau -1	70	69
C niveau +1	10	4	C niveau +1	3	82
Effet (Ecart)	41	87	Effet (Ecart)	67	-13
Effet moyen	20,5	43,5	Effet moyen	33,5	-6,5

De même, l'autre segment représente les variations de la réponse théorique quand on passe du niveau -1 au niveau +1 pour le premier facteur, le deuxième étant alors au niveau +1. Ces segments ne sont pas parallèles, cela indique que ces facteurs interagissent entre eux comme la matrice d'expérience nous l'avait indiqué. Ces calculs et leur représentation graphique permettent d'apprécier le niveau de cette interaction en la rapportant à la variation de chaque facteur. Comme pour les expériences conduites dans le toluène, les segments issus des expériences menées dans l'eau ne sont pas parallèles, ce qui traduit l'existence d'une interaction entre les facteurs (Figure 50).

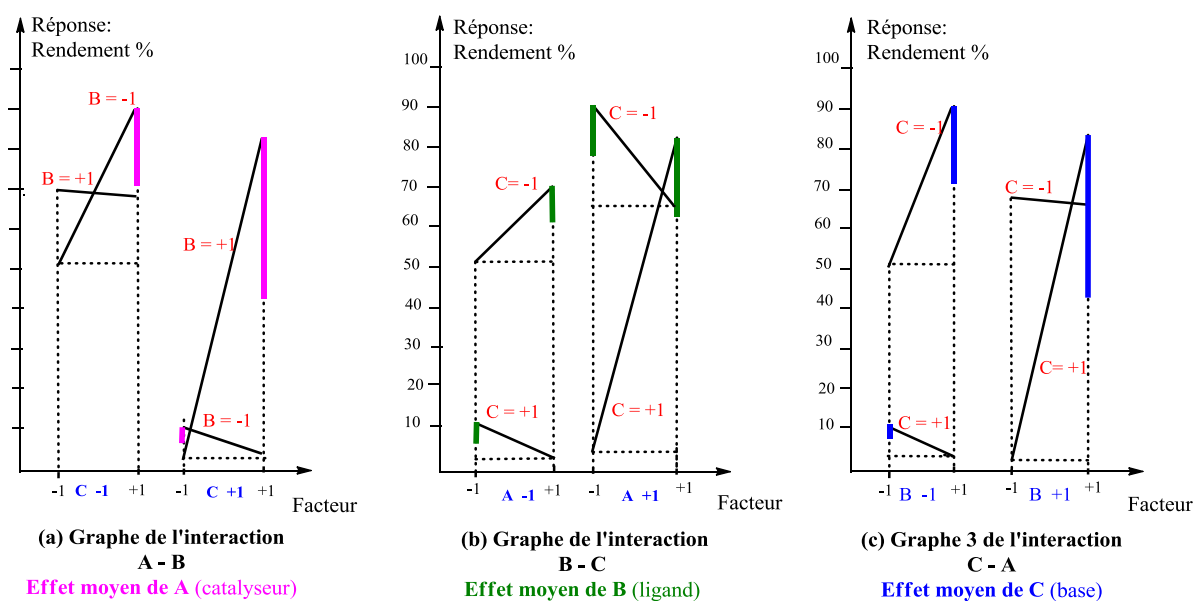


Figure 49 : Interactions d'ordre 2 et des effets des facteurs A (gauche) B (centre) et C (droite), pour la réaction de Heck dans le toluène.

Tableau 28 : Interaction des facteurs deux à deux pour les réactions dans l'eau

L'interaction des facteurs deux à deux en présence d'eau					
Interaction AB (catalyseur-ligand)					
C niveau -1	B niveau -1	B niveau +1	C niveau +1	B niveau -1	B niveau +1
A niveau -1	17	85	A niveau -1	55	44
A niveau +1	77	19	A niveau +1	51	55
Effet (Ecart)	-60	66	Effet (Ecart)	4	-11
Effet moyen	-30	33	Effet moyen	2	-5,5
Interaction BC (ligand-base)					
A niveau -1	C niveau -1	C niveau +1	A niveau +1	C niveau -1	C niveau +1
B niveau -1	17	55	B niveau -1	77	51
B niveau +1	85	44	B niveau +1	19	53
Effet (Ecart)	-68	11	Effet (Ecart)	58	-2
Effet moyen	-34	5,5	Effet moyen	29	-1
Interaction AC (catalyseur-base)					
B niveau -1	A niveau -1	A niveau +1	B niveau +1	A niveau -1	A niveau +1
C niveau -1	17	77	C niveau -1	85	19
C niveau +1	55	51	C niveau +1	44	53
Effet (Ecart)	-38	26	Effet (Ecart)	41	-34
Effet moyen	-19	13	Effet moyen	20,5	-17

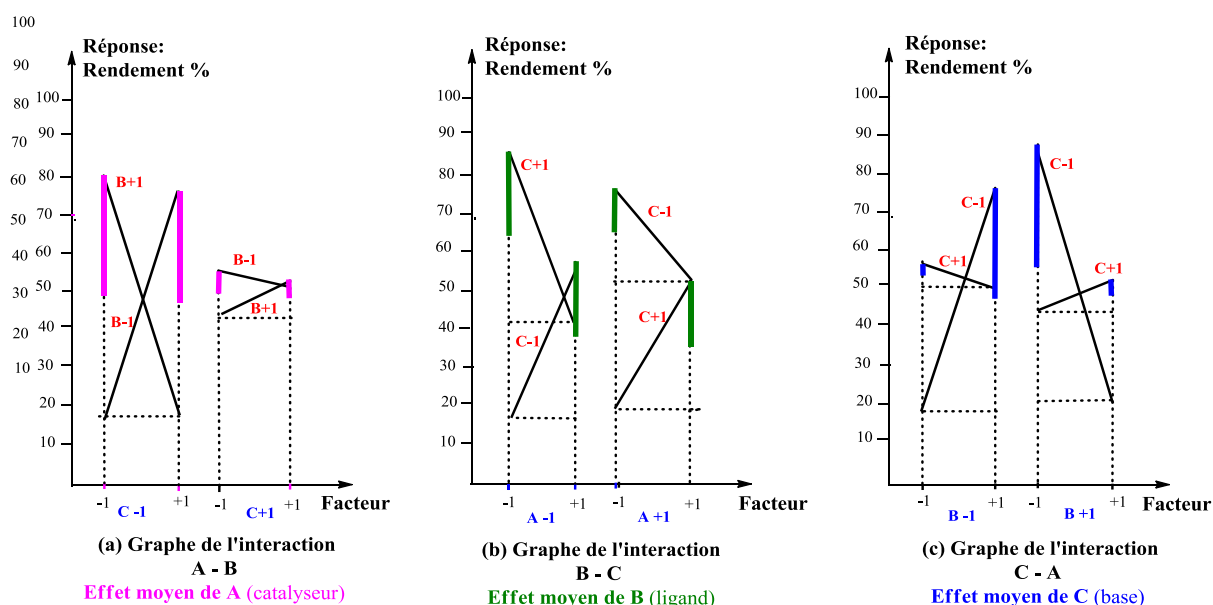


Figure 50: Interactions d'ordre 2 et des effets des facteurs A (gauche) B (centre) et C (droite), pour la réaction de Heck dans l'eau.

5) Equation de réponse théorique

Les calculs effectués précédemment permettent d'écrire une équation de réponse théorique de la réaction en fonction des facteurs (A = Pd, B = ligand, C = base) et de leurs interactions.

L'équation de réponse théorique en présence de toluène a pour expression :

$$Y = 47,5 + 13,75 A + 8,5 B + 22,75 C + 5,5 AB + 9,25 BC + 4,25 AC + 15,75 ABC + \varepsilon$$

L'équation de réponse théorique en présence d'eau a pour expression :

$$Y = 50,12 - 0,125 A + 0,125 B + 0,625 C - 18,37 AB - 6,625 BC - 2,87 AC + 17,375 ABC + \varepsilon$$

Ces équations de réponse théorique montrent d'une façon globale que le rendement « y » est affecté de façon nuancée par les 3 facteurs et par leurs interactions binaires et ternaire.

6) Couplage modèle avec la buténone

À partir de ces résultats encourageants obtenus avec le méthacrylate de méthyle **641**, nous avons étudié le couplage de Heck de notre modèle d'étude, le composé **626**, avec une autre oléfine, la buténone ou méthyl vinyl cétone (MVC) **616** présentant cette fois uniquement les atomes de carbones nécessaires à la formation du cycle D de la céphalotaxine, et en

appliquant les meilleurs résultats obtenu dans les essais 2 et 8 précédents dans le toluène (91 et 82% respectivement), afin de vérifier si les résultats issus du plan d'expérience peuvent conduire efficacement à des produits de couplage si l'on change un des partenaires (Schéma 110).

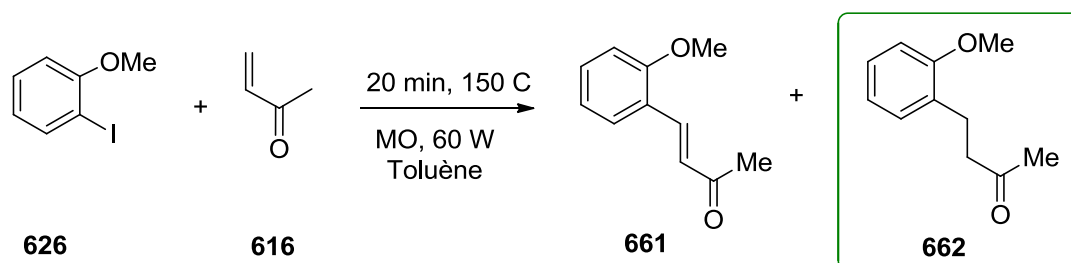


Schéma 110

Avec la MVC **616**, l'essai 2 permet d'obtenir le produit de couplage modèle de Heck attendu **661** avec 33% de rendement, accompagné du produit d'hydroarylation **662**, dit de Heck réducteur avec 77% de rendement. (Tableau 29). L'essai 2 fournit donc un rendement global quantitatif en produit de couplage mais ces produits doivent être séparés ou le mélange hydrogéné pour conduire uniquement au produit saturé **662**. Les résultats sont plus contrastés dans les conditions de l'essai 8 : le produit de couplage de Heck **661** est obtenu avec seulement 33% de rendement et le iodé **626** est récupéré avec 68 % de rendement. Nous n'avons pas cherché à améliorer cette réaction test, ne serait ce qu'en augmentant le temps de réaction, puisque l'iodé est encore majoritaire.

Tableau 29 : Résultats de la réaction de Heck du iodé **626, avec la MVC **616** dans les conditions des essais 2 et 8 dans le toluène (tableau 22, page 188).**

Essais	Conditions			Rendement		
	Catalyseur 5%	Ligand 5%	Base 8 éq.	661	662	626
2	PdCl ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe	23	77	-
8	Pd(OAc) ₂	PPh ₃	NaOAc	31	-	68

Ce résultat est surprenant à première vue car ces produits d'hydroarylation sont en général obtenus lorsque le couplage est effectué en présence d'acide formique qui joue le rôle de donneur externe de proton venant en concurrence de la *syn* β -élimination de HPdI.³⁴⁰ La

340 Voir par exemple: (a) Namyslo, J. C.; Kaufmann, D. E. *Chem. Ber. Recl.* **1997**, *130*, 1327-1331. (b) J. C. Namyslo, J. Storsberg, J. Klinge, C. Gärtner, M.-L. Yao, N. Ocal, D. E. Kaufmann, *Molecules* **2010**, *15*, 3402-3410.

formation d'un produit de couplage de Heck insaturé implique trois étapes fondamentales, une *syn*-carbopalladation de l'alcène, suivie d'une rotation autour de la liaison simple centrale qui est créée pour permettre la troisième étape de *syn*-déhydropalladation libérant ce produit de couplage de Heck (Schéma 64, p 148). Lorsque cette étape est ralentie ou empêchée par exemple, la régénération du catalyseur XPdH par intervention d'un donneur externe de proton comme un acide peut conduire au produit d'hydroarylation. C'est ce qu'a observé El Bialy dans sa synthèse formelle de la céphalotaxine (Schéma 97, p 168).²⁰²

Les ligands utilisés peuvent aussi avoir une influence sur la sélectivité de ces deux processus. La triphénylarsine AsPh₃ s'est montrée supérieure à la triphénylphosphine pour promouvoir cette réaction d'hydroarylation d'alcènes bicycliques.³⁴¹ Lorsque la MVC est condensée à des iodures aromatiques variés, l'utilisation d'éponge à proton et d'un ligand très encombré, la ttmpp, conduit exclusivement au produit de couplage de Heck, sans hydroarylation (entrée 1, tableau 19, p 175).³⁰¹ La réduction de l'espèce carbopalladiée intermédiaire peut être effectuée par une amine employée comme base. Nous n'avons pas cherché à orienter la réaction vers l'un ou l'autre de ces produits, mais les données de la bibliographie indiquent qu'il est possible de supprimer l'hydroarylation par ajout d'éponge à proton³⁰¹ par exemple ou de la favoriser par ajout d'acide formique²⁰².

6) Conclusion

La réaction de Heck est réputée être dépendante du substrat, c'est-à-dire que chaque variation d'un partenaire de la réaction nécessitera probablement de rechercher et d'optimiser les conditions opératoires. Devant l'avalanche de travaux relatifs à cette réaction, et nos résultats préliminaires décevants, nous avons décidé de mettre en application pour la première fois au laboratoire, la méthode des plans d'expérience en espérant:

- Réaliser efficacement ce couplage critique pour notre stratégie.
- Nous familiariser avec cet outil pour en tirer partie en synthèse totale où chaque rendement à un fort impact sur le résultat final.

L'étude du couplage de Heck sur un modèle, l'orthoiodoanisole **626** avec la MVC **616** a été réalisée en utilisant un plan d'expérience pour obtenir une réponse optimale en 8 expériences lorsque le solvant est le toluène, et 8 autres expériences pour la même réaction dans l'eau. Cela nous a permis d'analyser l'influence de trois facteurs, le catalyseur, le ligand

341 (a) G. Göksu, M. Gül, N. Öcal, D. E. Kaufmann, *Tetrahedron Lett.*, **2008**, 49, 2685-2688. (b) J. C. Namyslo, D. E. Kaufmann, *Synlett* **1999**, 804-806.

et la base, dans deux solvants différents, le toluène et l'eau, et a mis en évidence l'existence d'interactions très fortes entre ces trois facteurs, y compris pour l'interaction triple de ces facteurs, qui est souvent négligée par approximation !. En conséquence, l'optimisation de cette réaction ne peut se faire en optimisant indépendamment chaque facteur.

Nous avons, grâce à cette méthode de plan d'expérience, dégagé des conditions de réaction qui donnent de bons rendements en produit de couplage modèle **642**. Pour la réaction menée dans le toluène (Tableau 22, p 188), il s'agit de l'essai 2 (91% de rendement, en utilisant la combinaison de réactifs PdCl₂, PPh₃, Cy₂NMe), l'essai 8 ayant donné également un bon rendement en produit de couplage modèle **642** (82%, en utilisant la combinaison de réactifs Pd(OAc)₂, PPh₃, NaOAc). Pour la réaction de Heck dans l'eau (Tableau 23, p 189), nous avons de même dégagé deux types de conditions fournissant un rendement acceptable en produit **642** : il s'agit de l'essai 3 (85% de rendement, en utilisant la combinaison de réactifs Pd(OAc)₂, dppf, Cy₂NMe) et de l'essai 2 qui donne le produit **642** avec 77% de rendement. Cet essai 2 est donc peu sensible à la nature du solvant.

Si nous n'avions pas appliqué cette méthode statistique, il y a peu de chances que nous ayons abouti à ces bons résultats, en nous fiant seulement à notre intuition et à nos connaissances générales de la réaction de Heck pour faire varier les conditions opératoires. De plus, nous avons pu facilement transposer cette réaction dans l'eau en répétant le plan d'expérience sans grande perte d'efficacité.

Cette optimisation à l'aide de méthode statistique nous a permis d'éviter le recours à des additifs tels que les sels d'ammonium quaternaire ou d'argent, conditions qui ne nous avaient pas donné satisfaction d'ailleurs dans les études préliminaires à ce travail.²⁸⁸ Nous avons obtenus de bons résultats avec un système catalytique simple et classique pour un couplage de Heck, composé d'un catalyseur au palladium, d'un ligand et d'une base, chacun ayant été choisi pour leur pertinence vis-à-vis de notre réaction de Heck, et de façon à couvrir les deux types de mécanisme possibles de cette réaction, neutre ou cationique. Intuitivement, nous aurions par exemple choisi des bases solubles dans leur milieu, un sel pour la réaction dans l'eau et une base organique pour la réaction dans le toluène. Nous serions alors passés à côté de notre meilleur résultat qui utilise une base organique dans le milieu éco-compatible, l'eau. Nous avons transposé avec succès l'essai 2 dans le toluène à la MVC et obtenu quantitativement un mélange de produit de couplage (33%) et d'hydroarylation (77%).

Nous appliquerons ces conditions à notre molécule cible pour la synthèse de la céphalotaxine. Pour cela le deuxième objectif de ce travail a consisté à préparer les dérivés aromatiques iodés et les oléfines α -hétéro-substituées nécessaires à notre étude.

V. Accès au fragment AC

Pour appliquer les conditions de Heck, il nous faut préparer les dérivés aromatiques iodés **555b**, **558** et **663b** et des oléfines **556**. Le safrol **547** dont la structure est bien adaptée à notre cible, a été choisi pour son faible coût comme réactif de départ dans la synthèse de la céphalotaxine (Schéma 111).

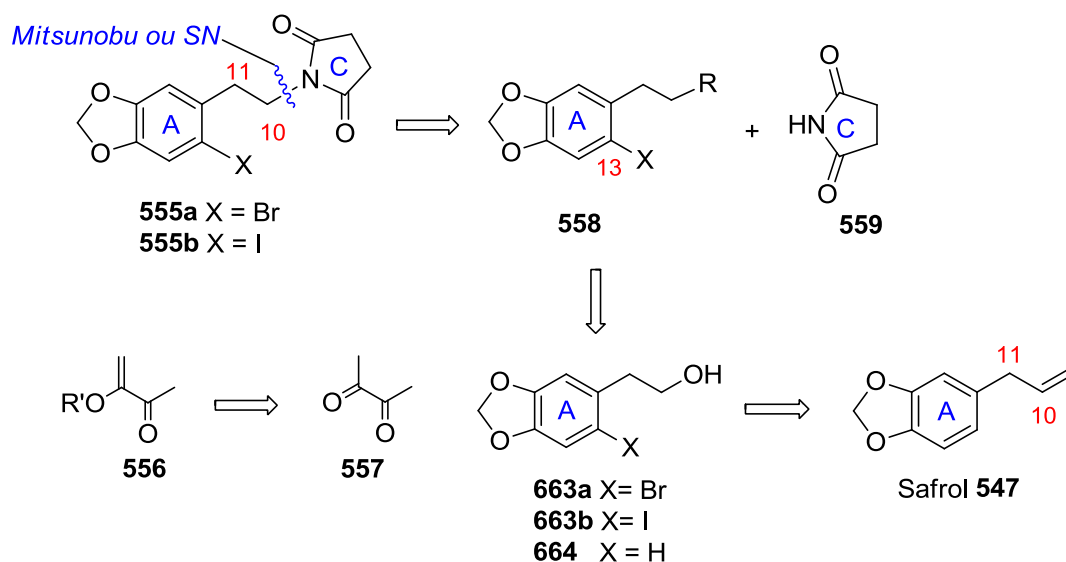


Schéma 111

1) Synthèse des dérivés aromatiques halogénés

La chaîne allyle du safrol **547** est porteuse de deux atomes de carbone C₁₀-C₁₁ du futur cycle B, mais comporte un carbone excédentaire et ne possède pas la fonctionnalité adéquate pour la suite de la synthèse. La première étape de la synthèse permet, par coupure oxydant à l'ozone, de se débarrasser du carbone excédentaire et de faire apparaître la fonction hydroxyle libre de l'unité A **663** qui permettra d'effectuer le couplage avec le future cycle C.

a) Ozonolyse réductrice

L'ozonolyse est une réaction potentiellement dangereuse puisqu'elle forme intermédiairement un ozonide qui est une espèce instable et explosive que l'on doit manipuler à basse température (-78 °C) et en milieu dilué.³⁴² Le réducteur employé, le borohydrure de sodium, permet ensuite d'obtenir l'alcool correspondant **664**, avec un bon rendement (Schéma

342 (a) J. A. Sousa, A. L. Bluhm, *J. Org. Chem.*, **1959**, 25, 108-111. (b) L. M. Cabral, E. J. Barreiro, *J. Heterocycl. Chem.*, **1995**, 32, 959.

112). Cet alcool **664**, préparé à l'échelle de 40 g, est la matière première pour évaluer notre stratégie de synthèse.

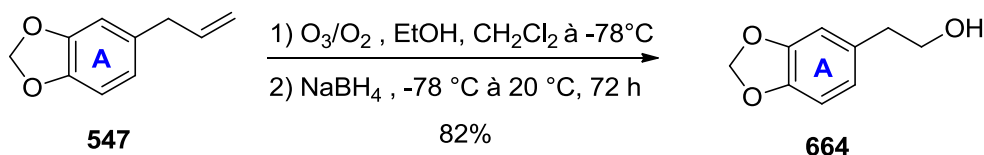


Schéma 112

b) Unités A iodées

Plusieurs méthodes permettent d'ioder un dérivé aromatique. L'iode moléculaire (I_2) est une source d'atomes d'iode particulièrement attractive pour l'iodation directe de composés aromatiques.³⁴³ Elle nécessite une activation par des protons, des ions métalliques ou un solvant adéquat et le piégeage de l'acide iodhydrique formé *in situ* pour éviter le clivage de la liaison C-I. Benoît Richard a montré dans sa thèse de doctorat²⁸⁸ que le dérivé aromatique iodé **663b** peut être formé à partir de l'alcool **664** précédemment obtenu, par traitement à l'iode en présence d'acide iodique pour fonctionnaliser régiosélectivement le noyau aromatique.³⁴⁴ Cette réaction n'est pas totale après 48 h de reflux, et le rendement est faible (Schéma 113) (Tableau 29, entrée 1). Comme l'alcool iodé **663b** est difficilement séparable de l'alcool non iodé **664**, les deux composés devraient être utilisés en mélange pour la réaction de Heck, ce qui n'est pas idéal. Devant cette difficulté, nous avons cherché à améliorer cette réaction tout d'abord en modifiant les conditions de réaction : le rendement s'améliore en 72 h de reflux mais la réaction n'est toujours pas complète. Si le chauffage microonde est appliqué, le dérivé iodé **663b** est obtenu avec un rendement de 44% en seulement 1 h (Tableau 29, entrée 3), ce qui montre si besoin est l'avantage du chauffage par MO en comparaison du chauffage conventionnel. Pour essayer d'améliorer la conversion et le rendement, un chauffage prolongé pendant 4 h a été tenté mais la réaction reste incomplète et des produits de dégradation se forment. Nous nous sommes tournés vers la méthode d'iodation en présence de trifluoroacétate d'argent comme acide de Lewis.^{345, 346} Cette réaction d'iodation est une substitution électrophile aromatique. Lorsque la réaction dure 2 h, on observe la formation de dérivé iodé attendu avec 63% de rendement, accompagné de 19% d'alcool de départ et de 10% du dimère éther **665** (Tableau 29, entrée 4). La meilleure

343 S. Stavber, M. Jereb, M. Zupan, *Synthesis*, **2008**, 1487-1513.

344 L. F. Tietze, O. Burkhardt, M. Henrich, *J. Lieb. Ann. Chem.*, **1997**, 1407-1413.

345 D. E. Janssen, C. V. Wilson, *Org. Synth. Coll.*, **1963**, 4, 547-549.

346 L. Charruault, V. Michelet, J-P. Genêt, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 4757-4760.

proportion est atteinte au bout de 6 h de réaction, le composé iodé **663b** étant obtenu avec 93% de rendement (Tableau 29, entrée 6).

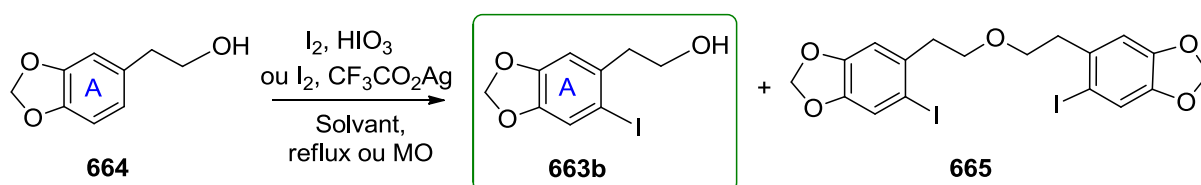


Schéma 113

Tableau 29 : Formation de l'alcool iodé **663b** avec le couple iode/acide iodique et iode/trifluoroacétate d'argent.

N	Conditions				Rendement%		
	Réactifs		Solvant	Chauffage / temps	663b	665	664
	I ₂						
1	0,4 éq.	0,21 éq. HIO ₃	MeOH, H ₂ O	Reflux / 48 h	37	-	53
2	0,4 éq.	0,21 éq. HIO ₃	MeOH, H ₂ O	Reflux / 72 h	56	-	31
3	0,4 éq.	0,21 éq. HIO ₃	MeOH, H ₂ O	150 °C, 60 W, 1 h	44	-	66
4	1,2 éq.	1,1 éq. CF ₃ CO ₂ Ag	CH ₂ Cl ₂	Ta / 2 h	63	10	19
5	1,2 éq.	1,1 éq. CF ₃ CO ₂ Ag	CH ₂ Cl ₂	Ta / 4 h	50	23	-
6	1,2 éq.	1,1 éq. CF ₃ CO ₂ Ag	CH ₂ Cl ₂	Ta / 6 h	93	4	3
7	1,2 éq.	1,1 éq. CF ₃ CO ₂ Ag	CH ₂ Cl ₂	17 °C / 24 h	90	10	-

D'autres réactions d'iodation ont été étudiées afin d'obtenir ce dérivé iodé **663b** exempt de produit de départ ou de produit secondaire. De nombreux réactifs donneurs d'atome d'iode, comme le *N*-iodosuccinimide en présence d'acide *p*-toluène sulfonique et le monochlorure d'iode (ICl), ont été utilisés avec succès pour l'iodation de composés aromatiques. La méthode utilisant ICl,³⁴⁷ a donné le composé iodé **663b** avec un rendement moyen, accompagné d'une proportion de 5% de produit di-iodé **666** (Schéma 114). Nous avons donc poursuivi notre étude d'iodation de l'alcool **664**.

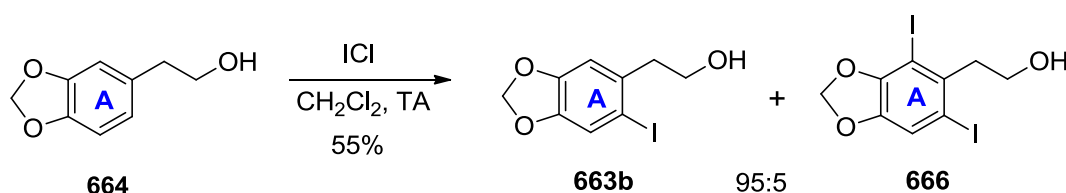


Schéma 114

347 (a) S. M. Hubig, W. Jung, J. K. Kochi, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 6233-6244. (b) L. F. Tietze, H. Schirok, M. Wöhrmann, Klaus Schrader, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2433-2444.

La méthode utilisant l'iode en présence d'acide sulfurique dans un mélange de CCl_4 , d'acide acétique et d'eau³⁴⁸ a conduit à encore plus de dérivé di-iodé **666** en plus de l'alcool iodé **663b** désiré, avec un rendement global moyen (Schéma 115).

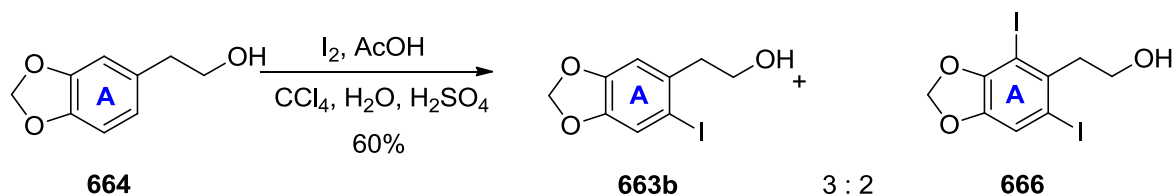


Schéma 115

La méthode de choix dans ce cas reste de loin la méthode utilisant l'iode en présence de trifluoroacétate d'argent. Elle permet d'obtenir le dérivé alcool iodé désiré **663b** avec 93% de rendement. Cependant, celle-ci utilise l'acétate d'argent en quantité stœchiométrique. C'est pourquoi, en dépit de ce bon résultat, nous avons cherché à effectuer la réaction d'iodation de l'alcool **664** par une autre méthode, en présence d'iode et d'acide périodique dans une solution d'acide acétique, d'eau et d'acide sulfurique (Schéma 116, tableau 30).^{349,350}

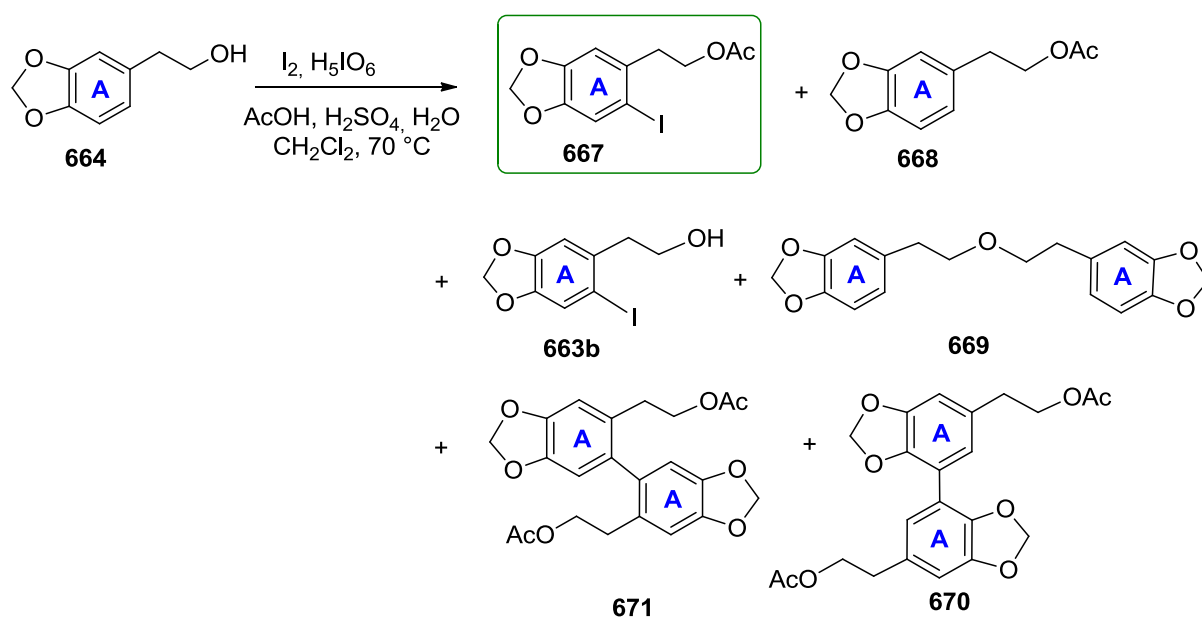


Schéma 116

348 D. E. Janessen, C. V. Wilson, *Org. Synth. Coll.*, **1956**, 36, 46.

349 H. Suzuki, Direct iodination of polyalkylbenzenes iododurene, *Org. Synth. Coll.*, **1988**, 6, 700 et **1971**, 51, 94.

350 H. Suzuki, R. Goto, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **1963**, 36, 389.

Le dérivé aromatique iodé **667** est formé avec rendement de 74% après 48 h à reflux (Tableau 30, entrée 6), mais il reste toujours du produit non iodé **668** (26%). Dans ces conditions, ce sont des dérivés acétylés, et non les alcools correspondants qui sont obtenus. L'acétate iodé **667** est obtenu facilement après séparation de l'acétate non iodé **668**, par chromatographie flash sur gel de silice avec un rendement de 37 à 74% selon les conditions illustrées dans le tableau 30 (entrées 1-6) par chauffage conventionnel pendant 1 à 48 h. Si le chauffage maintenu pendant 72 h, la iodation est complète mais la proportion acétate **667** /alcool **663b** est de 66/44 (Tableau 30, entrée 7). Pour limiter l'hydrolyse de l'acétate au cours de la réaction, nous avons pensé diminuer la quantité d'eau. Nous avons constaté que la concentration de l'acide sulfurique a un effet important sur le cours de la réaction : utilisé pur, il entraîne la formation des dérivés dimères non iodés éther **669**, ou issu d'un couplage de type Ullmann **670** et **671** (Tableau 30, entrée 8). Le meilleur compromis reste l'utilisation d'acide sulfurique à 90% qui donne l'acétate iodé attendu **667** avec 92% de rendement, accompagné de 8% de dimère éther **669** facilement séparable (Tableau 30, entrée 9) (Schéma 117). Ces conditions sont donc équivalentes en leur d'efficacité à celle de la méthode utilisant l'acétate d'argent en quantité stœchiométrique (Tableau 30, entrée 6).

Tableau 30 : Formation de l'acétate iodé **667** avec le couple iode/acide periodique

Conditions				Rendement %						
N	I ₂ éq.	H ₂ SO ₄ %	Temps h	667	668	663b	665	670	671	664
1	0,4	20	1	37	28	-	-	-	-	-
2	0,4	20	1h30	38	30	-	-	-	-	-
3	0,4	20	2	40	33	-	-	-	-	-
4	0,4	20	3	41	33	-	-	-	-	-
5	0,4.	20	24	70	30	-	-	-	-	-
6	0,4	20	48	74	26	-	-	-	-	-
7	0,4	20	72	66	-	44	-	-	-	-
8	0,4	98 (sans eau)	48	17	2	-	5	5	3	-
9	0,5	90	48	92	-	-	8	-	-	-

Conditions: alcool iodé, 0,5 éq. iodé, 0,21 éq. acide périodique, 1 mL/mmol AcOH, 0,2 mL/mmol eau, 0,13 mL/mmol acide sulfurique, 70 °C.

Une autre façon d'obtenir l'acétate iodé pur **667** consiste soit à acétyler l'alcool iodé **663b** contenu dans le mélange totalement iodé obtenu en présence d'acide sulfurique à 20%

après 72 h de reflux (Tableau 30, entrée 7) en utilisant de l'anhydride acétique,³⁵¹ soit à séparer les deux composés avant acétylation. L'acétylation de l'alcool primaire **663b** conduit au composé iodé acétate **667** avec un rendement de 84% (Schéma 117).

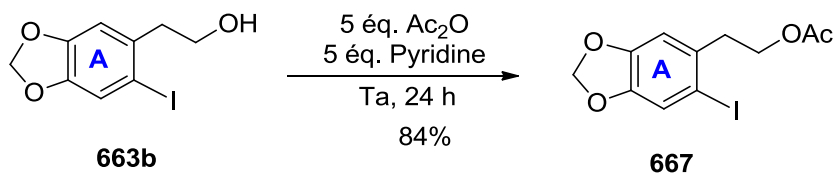


Schéma 117

c) Unité AC iodée

Pour la synthèse de la céphalotaxine, nous devons préparer des unités AC comme **555b** comportant le cycle C azoté à 5 chaînons issu du succinimide **559**. Nous avons envisagé d'utiliser pour cela une réaction de substitution nucléophile du succinimide **559** sur un dérivé di-iodé **672** accessible à partir de l'alcool iodé **663b** (Schéma 118).

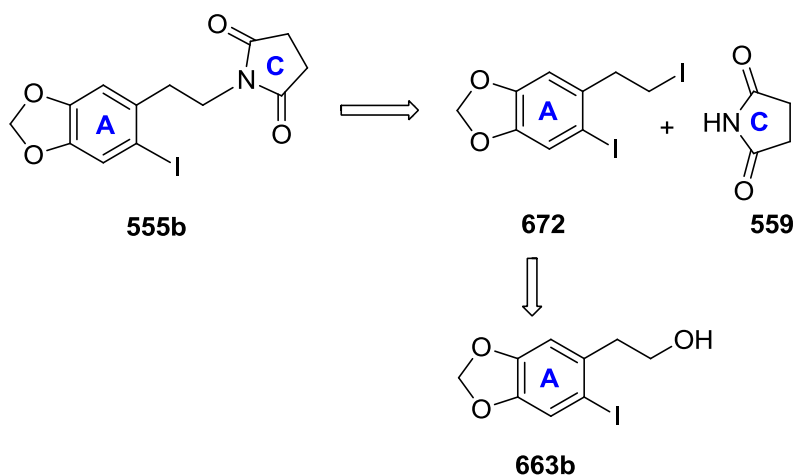


Schéma 118

c1) Préparation du dérivé di-iodé

Les iodures ou bromures d'alkyles sont largement utilisés pour les réactions de couplage carbone-carbone et sont aussi utilisés comme intermédiaires dans les réactions de substitution, élimination et de réarrangement. En effet, bien que les iodures d'alkyles soient moins stables que les chlorures ou bromures correspondants, ils sont plus réactifs que les

351 G. Stork, T. Takahashi, I. Kawamoto, T. Suzuki, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 26, 8272–8273.

autres halogénures. Ainsi, la conversion des alcools en halogénures correspondants est une transformation très importante ayant donné lieu à différents méthodes de préparation.³⁵²

Pour effectuer la iodation de groupes hydroxyles aliphatiques, plusieurs méthodes ont été décrites à l'aide d'une variété de systèmes réactifs. Nous avons étudié la conversion de l'alcool **663b** en iodure correspondant **672** avec l'iode (2 éq.) et la triphénylphosphine (1 éq.) (Schéma 119). Ces conditions sont simples à mettre en œuvre, rapides et efficaces. La réaction est effectuée dans le dichlorométhane avec irradiation MO ou pour chauffage conventionnel. Nous avons également essayé le chauffage MO sans solvant,³⁵³ mais cela a conduit à l'explosion du réacteur et nous n'avons pas donc poursuivi donc cette voie.

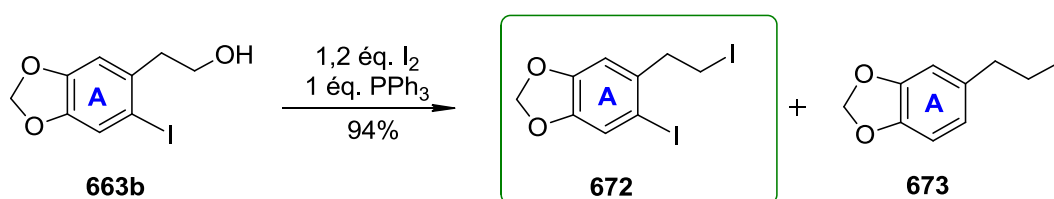


Schéma 119

Tableau 31. Conversion de dérivé alcool en dérivé di-iodé sous différentes conditions à l'aide de I_2/Ph_3P .

N	Conditions			Rendement %	
	Solvant	Temperature	Temps	672	673
1	CH ₂ Cl ₂	Ta	48 h	69*	31*
2	CH ₂ Cl ₂	Reflux à 60 °C	12 h	63	37
3	CH ₂ Cl ₂	Reflux à 60 °C	48 h	62*	38*
4	Sans solvant	MO, 300 W	3 min	Explosion	
5	CH ₂ Cl ₂	MO, 100 W, 100 °C	5 min	94	6
6	CH ₂ Cl ₂	MO, 20 W, 200 °C	10 min	50*	50*
7	CH ₂ Cl ₂	MO, 100 W, 100 °C	15 min	48	18

* : (Conversion déterminée par RMN) %

Plusieurs essais menés à la température ambiante (Tableau 31, entrée 1) ou au reflux du dichlorométhane (entrées 2-3) ont nécessité un temps de réaction assez long pour obtenir la conversion totale de l'alcool iodé **663b**. Nous avons donc activé cette réaction sous MO.

352 (a) W. F. Bailey, A. D. Khanolkar, *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 6058–6061; (b) W. F. Bailey, A. D. Khanolkar, *Tetrahedron*, **1991**, 47, 7727–7738.

353 A R. Hajipour, A R. Falahati, A E. Ruoho, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, 47, 4191-4196.

Cependant nous avons observé une proportion variable de dérivé mono-iodé **673** dont la liaison C-I aromatique a été clivée, plus importante à 200 °C sous micro-onde que à 100 °C (entrées 6 et 7, tableau 31), et également, à puissance égale, si le temps de réaction augmente (Tableau 31, entrées 5 et 7). Contrairement à ce qui avait été présenté dans l'article original de Hajipour,³⁵³ la réaction sans solvant sous MO conduit une explosion très rapide (entrée 4, tableau 31), et nous avons donc ajouté le solvant utilisé dans les essais par chauffage conventionnel pour la poursuite de cette étude.

Comme indiqué dans le tableau 31, dans les meilleures conditions, le di-iodé **672** est produit avec un rendement de 94% dans le CH₂Cl₂ et sous irradiation MO en 5 min (entrée 5, tableau 31). Si la réaction est prolongée, le rendement diminue.

c2) Préparation de l'unité AC

L'unité AC iodée **555b** comprenant un cycle succinimide est préparée par substitution nucléophile à partir du dérivé di-iodé **672** (schéma 120).

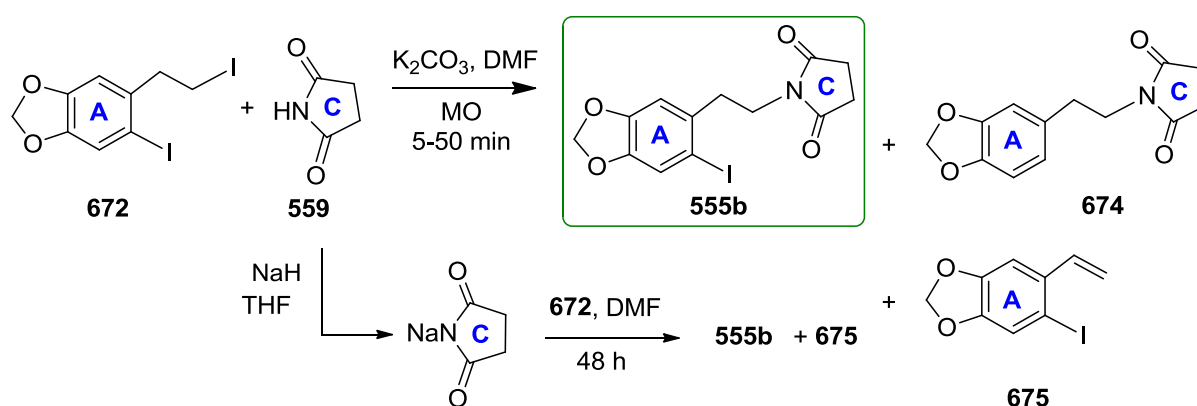


Schéma 120

Alors que le déplacement de l'atome d'iode aliphatique de l'unité A **672** par le succinimide de sodium permet d'introduire le futur cycle C de la CET en conduisant au composé **555b** avec 68% de rendement par chauffage classique³⁵⁴ pendant 48 h, il se forme cependant 17% de dérivé styrenique **675** facilement séparable (entrée 2, Tableau 32).

Parmi les différentes conditions expérimentales testées dont les résultats sont reportés dans le tableau 32, le composé **555b** a été facilement obtenu avec un rendement de 54%, à l'aide de K₂CO₃ dans le diméthylformamide sous irradiation MO à 50 W et à une température

354 M. Pailer, A. Schleppe, *Monatsch. Chem.*, **1965**, 96, 1554.

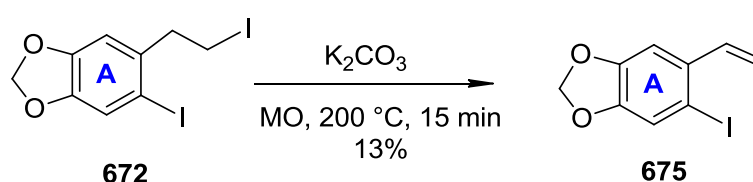
de 200 °C, pendant 30 min.³⁵⁵ Le rendement global non optimisé à partir en unité AC iodée du safrol est alors de 20% sur 5 étapes. A température plus basse, 80 °C, une meilleure conversion du diodé **672** en unité AC **555b** est observée en 50 min (80%, entrée 8, tableau 32), avec une faible proportion du styrène **675** (11%).

Tableau 32: Conversion du dérivé di-iodé **672** en dérivé iodé **555b**

N	Conditions						Rendement %		
	Réactifs	Solvant	Δ	°C	Temps		672	674	675
1	4 éq. NaH	DMF, THF	Reflux	50	22 h	50	50	-	-
2	4 éq. NaH	DMF, THF	Reflux	50	48 h	68	-	-	17
3	2 éq. K ₂ CO ₃	DMF	MO	200	5 min	62*	38*	-	-
4	2 éq. K ₂ CO ₃	DMF	MO	200	10 min	Dégrad.	-	-	-
5	2 éq. K ₂ CO ₃	DMF	MO	200	15 min	-	-	-	13
6	2 éq. K ₂ CO ₃	DMF	MO	200	25 min	35	-	45	-
7	2 éq. K ₂ CO ₃	DMF	MO	200	30 min	54	-	-	-
8	2 éq. K ₂ CO ₃	DMF	MO	85	50 min	80*	9*	-	11*

Dégrad= dégradation, * : Conversion déterminée par RMN %

Le composé styrénique **675** se forme d'ailleurs avec 13% de rendement par réaction du di-iodé **672** en présence de carbonate de potassium et sans succinimide sous MO à 200 °C en 15 min (entrée 5, Tableau 32, Schéma 121).



chauffage classique avec 70% de rendement (Tableau 33, entrée 1), soit en présence d'iode et de trifluoroacétate d'argent à température ambiante en 6 h avec un rendement de 92% (Tableau 33, entrée 2).³⁴⁶ Il est intéressant de noter que dans cette réaction, aucun sous produit ne doit être séparé de l'iodé **555b**.

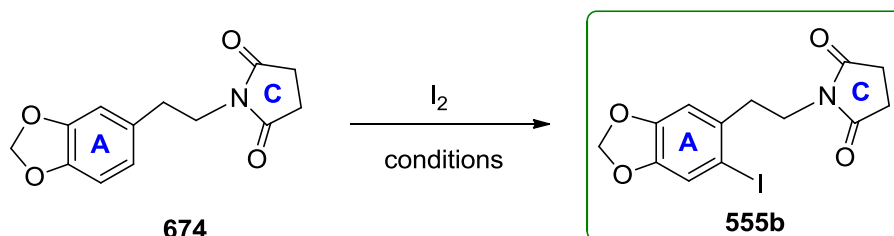


Schéma 122

Tableau 33 : Conversion du dérivé 674 en dérivé aromatique iodé 555b

N	I ₂	Conditions	Température	Temps h	Rdt %
1	0,4 éq.	H ₅ IO ₆ , H ₂ SO ₄ 20%, AcOH, H ₂ O	70 °C	24	70*
2	1,2 éq.	1,1 éq. CF ₃ CO ₂ Ag, CH ₂ Cl ₂	Ta	6	92

*Conversion. RMN%.

Finalement, nous avons donc préparé 4 dérivés iodés qui seront engagés dans les couplages de Heck. Dans un premier temps, la réaction de Heck sera étudiée sur les composés dépourvus du cycle C imide qui sont obtenus en 2 ou 3 d'étapes à partir du safrole (Schéma 123).

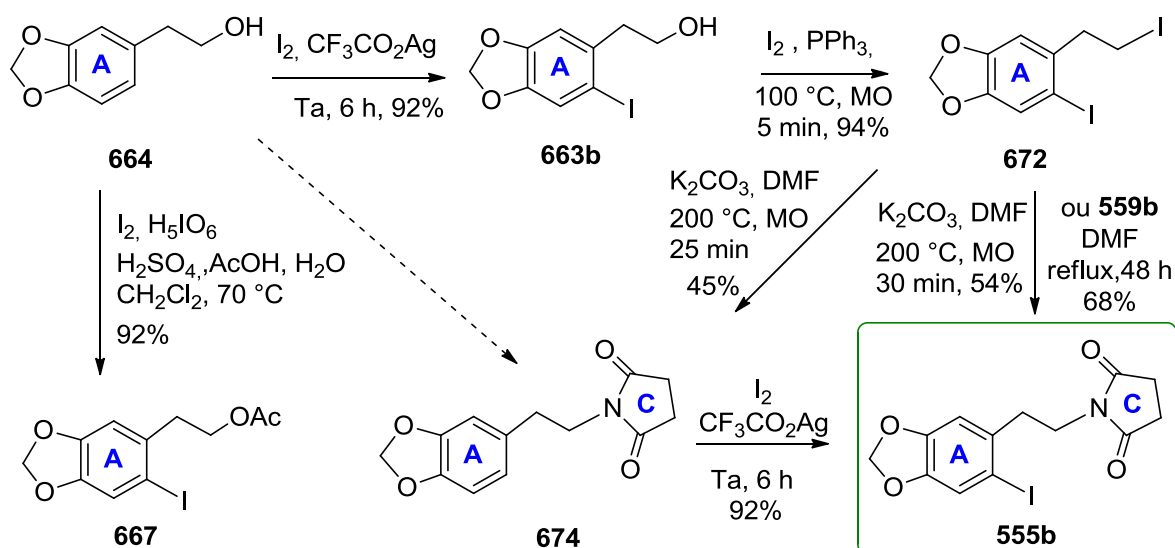


Schéma 123

Compte tenu de la iodation rapide et efficace de l'unité AC **674**, une voie alternative d'accès au iodé **555b** consistera à transformer l'alcool **664** en unité AC par bromation (réalisée préalablement au laboratoire avec 84% de rendement)²³¹ ou iodation de la fonction alcool sous MO suivie de la substitution nucléophile de l'halogénure par le succinimide de sodium pour conduire au dérivé **674**.

d) Unité AC bromée

Fu ayant montré que des composés aromatiques bromés ou même chlorés encombrés peuvent être couplés à température ambiante avec le méthacrylate de méthyle **641**,²⁰⁶ nous avons décidé de préparer également l'unité AC bromée **555a** pour évaluer ce système catalytique. Pour synthétiser l'unité AC **555a**, nous avons envisagé une réaction de Mitsunobu²³⁴ du succinimide **559** sur l'alcool bromé **663a**, conduisant directement à celle-ci (Schéma 124). En effet, la réaction de Mitsunobu permet de coupler des dérivés présentant un groupe hydroxyle comme celui de l'alcool bromé **663a**, avec des composés possédant un atome d'hydrogène acide, tel le succinimide **559**. Le composé **555a**, portant les cycles A et C liés par les carbones C₁₀ et C₁₁, ainsi qu'un atome de brome en C₁₃ a pu être obtenu avec un rendement de 58 % en utilisant cette méthode.

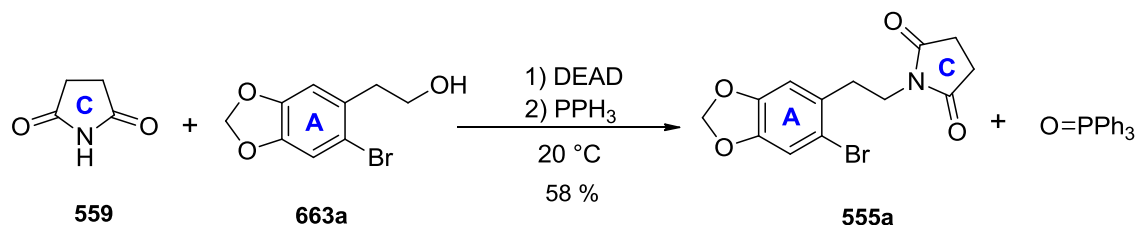


Schéma 124

2) Accès aux oléfines C1-C4

Pour le couplage de Heck avec les dérivés aromatiques bromé **555a**, ou iodé **555b**, ou les dérivés précurseurs iodé-alcool **663b**, iodé-acétate **667** ou di-iodé **672**, nous avons décidé d'utiliser différentes oléfines captodatives **556** (Schéma 125), afin d'accéder à l'intermédiaire clé **553** (Schéma 61, page 146). Ces oléfines, préparées à partir de la butanedione **557** dont la chaîne est porteuse de quatre atomes de carbone C₁–C₂–C₃–C₄ du futur cycle D de la céphalotaxine, portent un groupement acétate (**618**), méthyle (**676**) ou *tert*-butyldiméthylsilyl (**677**).

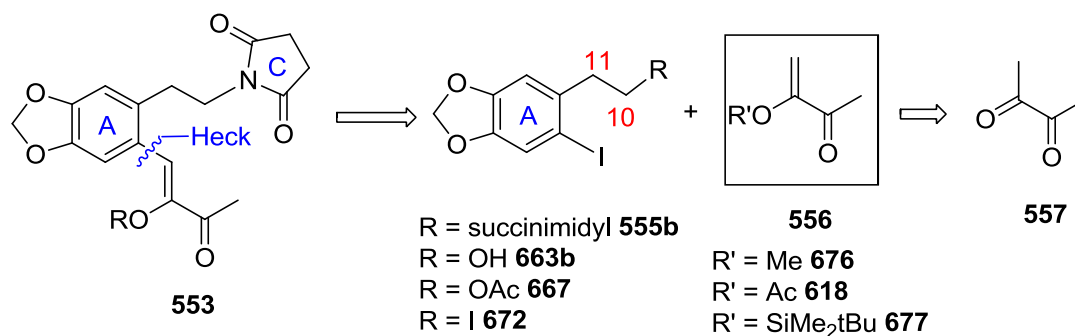


Schéma 125

a) Monoacétate de la butanedione

Le composé **618** est le monoacétate d'énol de la 2,3-butanedione **557**. Il est obtenu à partir de la 2,3-butanedione **557** selon la méthode de synthèse décrite par Cava en 1982.³⁵⁶ Le faible rendement (37%) peut-être expliqué par sa grande réactivité et la tendance de ces composés à polymériser (Schéma 126).

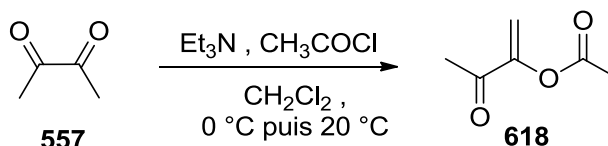


Schéma 126

b) Monoéther d'énol méthylique de la butanedione

Nous avons pensé que l'éther d'énol méthylique **677** serait moins sensible à l'hydrolyse et donc plus stable dans les conditions de Heck dans l'eau. La 3-méthoxy-3-butèn-2-one **677** a été préparée de plusieurs façons.

Severin et Feuerer l'ont préparé par réaction du brome sur l'éthoxycarbonyl-hydrazone de la 3-butèn-2-one **676** dans du dichlorométhane à basse température (-50 °C) avec un rendement de 77% (Schéma 127).³⁵⁷

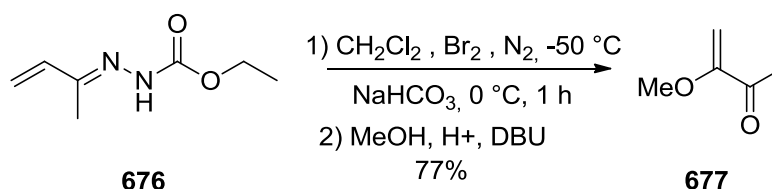


Schéma 127

356 R. J. Ardecky, D. Dominguez, M. P. Cava, *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 409-412.

357 A. Feuerer, T. Severin, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 6026-29.

Agosta et Brodsky ont éliminé le méthanol de la 3,3-diméthoxy-2-butanone **678** dans des conditions acides par distillation à 170 °C pour donner l'éther d'énol **677** attendu avec un rendement de 65% en mélange (proportion non déterminée) avec l'acétal **678**. Une chromatographie préparative en phase gazeuse permet de le séparer de l'acétal **678** n'ayant pas réagi (Schéma 128).³⁵⁸

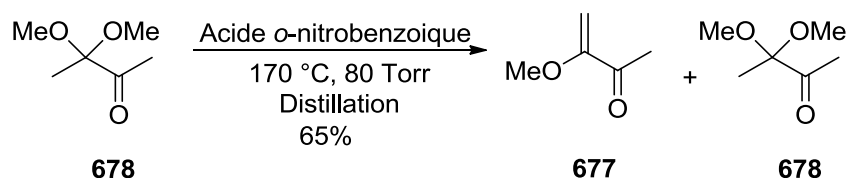


Schéma 128

En 2003, Salgado et ses collaborateurs ont décrit une préparation similaire de l'oléfine recherchée **677** en 2 étapes à partir de la butane-2,3-dione **557** (Schéma 128).³⁵⁹ La 3,3-diméthoxy-2-butanone **678** est préparée avec un rendement de 61%. à partir de la 2,3-butane-dione **557** par action du triméthyl orthoformiate en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique. La pyrolyse de l'acétal **678** avec le tosylate de diisopropyléthylammonium **78**,³⁶⁰ utilisé comme catalyseur de craquage, donne un mélange de 3-méthoxy-3-buten-2-one **677** et de d'acétal **678** n'ayant pas réagi dans une proportion de 2,6:1, ainsi que du méthanol avec un rendement combiné de 48%. Nous avons retenu cette méthode pour préparer cette oléfine **677** pour sa facilité de mise en œuvre et parce que l'acétal **678** est aisément accessible.

La 3-méthoxy-3-buten-2-one **677** a été obtenu en 2 étapes à partir de la butane-2,3-dione **557** par une protection sélective de l'un des deux groupes carbonyles avec l'orthoformiate de méthyle en présence d'une quantité catalytique d'acide sulfurique. Nous avons également préparé le catalyseur de craquage **680** par action de l'acide *p*-toluène sulfonique **679** sur la diisopropyléthylamine (Schéma 129). L'oléfine **677** a été ensuite obtenue avec un rendement de 32% en mélange avec l'acétal qui n'est pas séparé car il n'est pas réactif dans l'étape suivante de couplage pallado-catalysé (Schéma 130). Le mélange sera utilisé tel que dans l'étape suivante.

358 L. Brodsky, W. C. Agosta, *J. Org. Chem.*, **1974**, 39, 2928-30.

359 A. Salgado, Y. Dejaegher, G. Verniest, M. Boekens, C. Gauthier, C. Lopin, K. A. Tehrani, N. De Kimpe, *Tetrahedron*, **2003**, 59, 2231-39.

360 R. M. Jacobson, R. A. Rath, J. H. McDonald, *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, 2545-49.

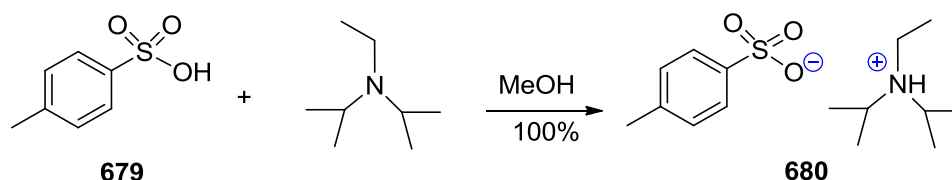


Schéma 129 : Synthèse du catalyseur de craquage 680

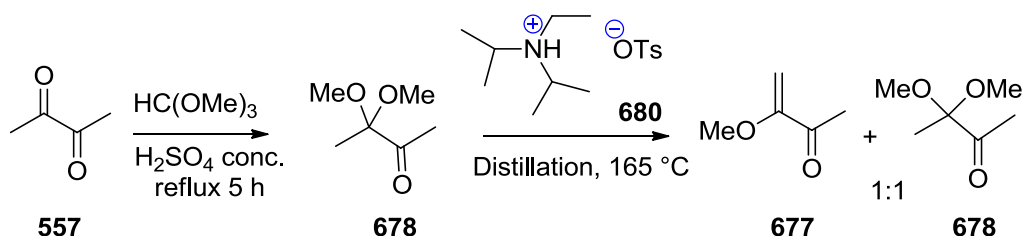


Schéma 130

c) Ether d'énol silylé de la 1,2-butanedione

Des cétones variées ont été converties en éthers d'énol silylés par traitement avec des triflates de trialkylsilyle en présence d'une amine. La conversion de diones 1,2 en monoéther d'énol silylé a été décrite notamment par Crimmins qui a utilisé le TBDMSOTf et la triéthylamine anhydre dans CH_2Cl_2 à température ambiante pour obtenir le monoéther d'énol de la 1,2-cyclopentanedione (sans préciser le protocole expérimental ni le rendement).³⁶¹ Nous avons choisi ces conditions de réaction pour préparer le composé **681** (Schéma 131). Cette réaction ne s'arrête pas à l'éther d'énol **681** mais conduit directement au diéther d'énol **682**, y compris avec un seul équivalent de TBDMSOTf, c'est ce seul diéther d'énol **682** qui est obtenu avec 42% de rendement (Tableau 34, entrée 2).

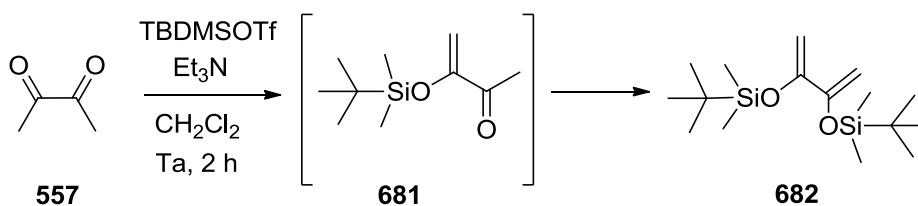


Schéma 131

Tableau 34: Conversion de 2,3-butanedione en éther d'énol silylé.

N	Conditions		Rendement %
	éq. TBDMSOTf	éq. Et ₃ N	682
1	2,5	3	29
2	1	3	42

361 M. T. Crimmins, D. K. Jung, J. L. Gray, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 5445-5447.

VI. Etude du couplage de Heck

1) Aromatiques halogénés utilisés pour le couplage de Heck

Les composés aromatiques iodés utilisés pour la réaction de Heck sont de deux types. Ce sont tout d'abord les dérivés aromatiques activés possédant un groupement électroattracteur, qui va fragiliser la liaison carbone-halogène, et donc faciliter l'insertion du palladium. Pour la synthèse de la céphalotaxine, nous avons utilisé au contraire des composés aromatiques désactivés, puisqu'ils comportent un groupement méthylènedioxy qui enrichit le noyau aromatique en électrons, et va rendre ainsi plus difficile l'insertion du palladium dans la liaison C_{aromatique}-I et l'entrée dans le cycle catalytique conduisant au produit de couplage désiré. Il s'agit des unités A alcool **663b**, iodé **672** et acétate **667**, et des unités AC bromée **555a** et iodée **555b** (Schéma 132). La substitution en position ortho de l'halogène par la chaîne latérale C₁₁-C₁₀, apporte une situation d'encombrement stérique qui rend cette réaction plus difficile que sur des halogénés substitués en méta ou en para.

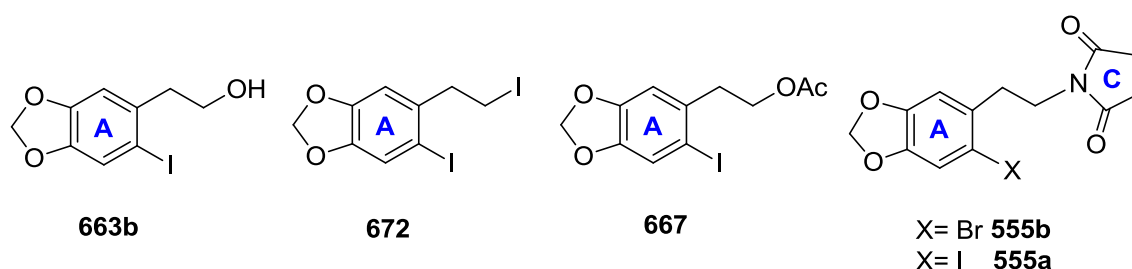


Schéma 132

2) Oléfines utilisées pour le couplage de Heck

Différentes oléfines ont été utilisées pour le couplage de Heck avec les dérivés iodés que nous avons préparés. Ces oléfines comportent un carbone sp² activé en β du groupe électroattracteur (GEA) qui permet une bonne addition sur le cycle aromatique, lors de la phase de carbométallation du cycle catalytique de la réaction de Heck et assure la régiosélectivité d'addition en β conduisant au produit linéaire recherché.

Le méthacrylate de méthyle **641**, notre modèle d'étude pour le plan d'expérience avec le 2-iodoanisole **626**, est substitué en alpha comme le 2-acétamidoacrylate de méthyle **628** dont le couplage de Heck est décrit par Fredj,²⁹⁶ de Vries,²⁹⁸ Lazarus,²⁹⁹ Takahashi³⁰⁰ et Sinou²⁹⁷ (voir pp 171-173). Ces deux oléfines disponibles dans le commerce n'apportent que 3 des 4 carbones nécessaires pour former le futur cycle D et ne sont donc que des modèles d'étude de réaction. Les autres oléfines apportent la chaîne de quatre carbones: la méthyl

vinyl cétone **616**, disponible dans le commerce et les dérivés de la butanedione que nous avons préparés : le mono acétate **618**, l'éther méthylique **677** et le diéther d'énol silylé **682** (Schéma 133).

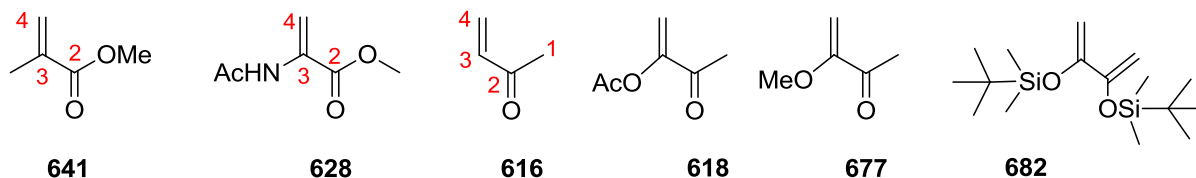


Schéma 133

Le substrat idéal pour la réaction de cyclisation anionique devant former le cycle B de la céphalotaxine (voir Schéma 59, p 144) est une dione 1,2 plutôt qu'une forme protégée de son tautomère énol, car la dione possède le bon degré d'oxydation, et de plus, elle est supposée stabiliser l'anion benzylique indispensable à cette cyclisation devant former le cycle B de la céphalotaxine (Schéma 134).

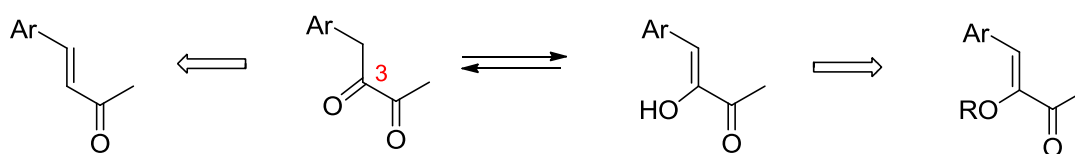


Schéma 134

La méthyl vinyl cétone **616** est une énone moins encombrée que les oléfines substituées en alpha. Bien qu'elle présente tous les carbones nécessaires à la formation du cycle D de la céphalotaxine, il lui manque un degré d'oxydation en 3 par rapport au composé **618**. Ainsi, la méthylvinylcétone semble être un bon modèle, car elle est plus réactive. Ces oléfines devraient donc réagir sensiblement aux mêmes températures : assez fortes pour que la réaction se déroule, mais pas trop importante pour que le produit ne soit pas dégradé.

Les autres oléfines utilisées sont des oléfines α -substituées. Le monoacétate de la 2,3-butanedione **618** et l'éther méthylique **677** n'ont encore jamais été utilisés dans une telle réaction. Ces oléfines captodatives, à la fois activées par effet électronique et désactivées par effet stérique, ont attiré notre attention en raison de leur potentiel synthétique d'une part et dont la forme protégée sous forme de double liaison de la dione recherchée se prête bien à la réaction de Heck.³⁶² Cette oléfine α -alkoxy-carbonylée a été utilisée comme intermédiaire dans la synthèse de produits naturels. L'effet électronique mésomère donneur du groupe

³⁶² J. Quick, R. Jenkins, *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2275–2277.

méthoxy du monoéther d'énol **677** pourrait rendre le système moins sensible à l'attaque nucléophile alors même que le groupe carbonyle est activant pour l'alcène.

Après quelques essais infructueux de couplage l'unité AC iodée **555b** avec le monoacétate de la 2,3-butanedione **618** attribués à sa facilité à polymériser, nous nous sommes tournés vers le couplage des unités A, tel qu'exposé ci-dessous.

3) Couplage de Heck avec l'alcool iodé **663b**

Nous avons tout d'abord expérimenté la réaction de couplage de l'alcool iodé **663b** avec le méthacrylate de méthyle **641** qui nous avait donné satisfaction pour le couplage avec le 2-iodoanisole **626** grâce au plan d'expérience (Schéma 109, p 180 et Tableau 22, p 188), afin de déterminer de bonnes conditions de réaction, sans gaspiller les oléfines que nous avons préparées.

a) Couplage avec le méthacrylate de méthyle

Les meilleures conditions du modèle (91% de rendement, catalyseur PdCl₂, ligand PPh₃ et la base organique Cy₂NMe), autrement dit celles de l'essai 2 dans le toluène, ont été utilisées dans cette réaction de Heck (Schéma 135). Les résultats sont présentés dans le tableau 35. Bien que la substitution de la double liaison dans sa position α ait entraîné une diminution importante du rendement (60% au lieu de 91%, Tableau 35, entrée 1), cette réaction conduit essentiellement au produit de couplage linéaire attendu **683**.

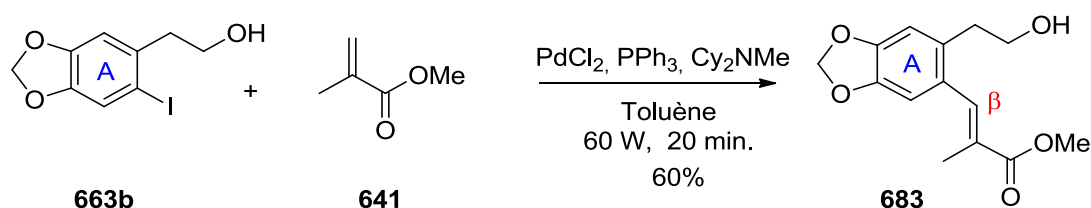


Schéma 135

Nous avons également tenté de diminuer un peu le pourcentage de catalyseur et le nombre d'équivalents de base, mais cela a entraîné une chute de rendement de plus de 20%.

Tableau 35: Couplage de Heck de **663b** avec le méthacrylate de méthyle **641** (2 éq.) dans le toluène.

Entrée	Protocole	Echelle (mmol)	PdCl ₂ PPh ₃ mol%	Cy ₂ NMe Eq.	Rendement %
1	Essai 2	1	5	8 éq.	60
2 ^a	Essai 2 modifié	1,2	4	6,6	38

^a: Conditions de l'Essai 2 (Tableau 22, page 188, 5 mol % PdCl₂ et PPh₃, 8 éq. Cy₂NMe).

Nous nous sommes alors tournés vers le couplage de Heck de l'alcool **663b** avec la méthylvinylcétone.

b) Couplage avec la méthyl vinyl cétone

Nous avons comme précédemment sélectionné pour commencer les conditions de l'essai 2 dans le toluène (Schéma 136).

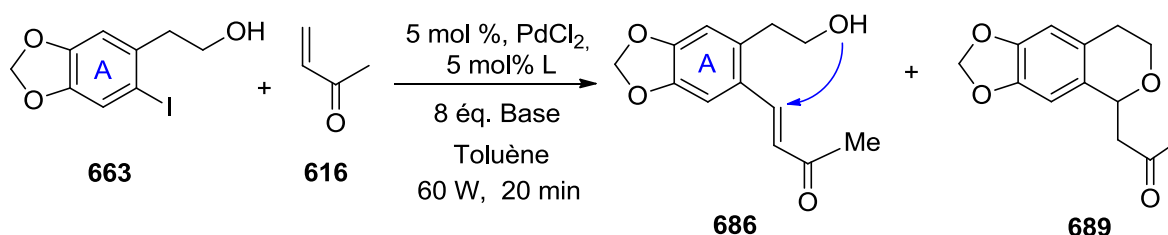


Schéma 136

Tableau 36: Couplage de Heck de l'alcool iodé **663b** avec la méthyl vinyl cétone

Conditions						Rdt %			
N	Protocole	Temp °C	Base 8 éq.	Ligand 5%	Temps	686 H	689 OM	663b I	Combiné 686+689
1	Essai 2	150	Cy ₂ NMe	PPh ₃	20 min	17	82	0	99
2	Essai 8	150	NaOAc	dppf	20 min	8	16	46	24
3	Essai 8	100	NaOAc	dppf	4h20	11	24	65	35

Le couplage de l'alcool **663b** dans ces conditions a fourni le produit de Heck **686** avec un faible rendement (Tableau 36, entrée 1). Le produit majoritaire est issu de la réaction tandem Heck/oxa-Michael conduisant à l'isochromane **689** avec 82% de rendement. Les

réactions tandem Heck/oxaMichael³⁶³ ne sont pas très fréquentes, même si la tendance à développer des processus tandem s'accroît ces dernières années, pour intensifier les processus de synthèse et accéder à une plus grande diversité moléculaire.³⁶⁴

Nous avons donc tenté le couplage dans l'autre condition donnant un bon rendement avec le modèle dans le toluène, l'essai 8. Dans ces conditions aussi, le rendement en produit de couplage attendu **686** est faible (8%), mais cette fois la quantité de produit issu du processus tandem Heck/oxa-Michael est faible également (16%), ce qui représente un rendement combiné en produits de couplage de seulement 24% (Tableau 36, entrée 2).

Ayant fait l'hypothèse que cette différence de rendement serait due en partie à la facilité de polymérisation de la MVC **616** à haute température, nous avons décidé de baisser la température de la réaction et d'en prolonger éventuellement la durée (entrée 3). La réaction a été suivie par CCM pour suivre la disparition de l'alcool iodé **663b**. Cependant, après 4 h20 de réaction, il reste toujours beaucoup de dérivé iodé **663b** de départ. La réaction est arrêtée, traitée et le brut purifié sur colonne de gel de silice pour conduire au produit de départ (65%) et aux produits de couplage de Heck **686** (11%) et de tandem Heck/oxa-Michael **689** (24%), soit un rendement combiné de 35% en produit de couplage. Bien que cet essai ait montré que la température élevée des essais MO est délétère pour la MVC, le long temps de réaction ne permet qu'une légère amélioration du rendement au détriment de la rapidité de la réaction.

De plus, l'alcool iodé **663b** conduisant principalement au produit de réaction tandem Heck/oxa-Michael **689**, la réaction de Heck devra être conduite avec des dérivés dont la fonction alcool est masquée, comme dans le di-iodé **672**, l'acétate iodé **667** ou les unités AC **555**.

4) Couplage de Heck avec le dérivé di-iodé

Compte tenu de l'excellent rendement combiné en produits de couplage de l'alcool **663b** avec la MVC **616** dans les conditions de l'essai 2 dans le toluène (et du bon rendement de ce couplage avec le méthacrylate de méthyle **641**), nous avons sélectionné ces conditions pour le couplage du dérivé di-iodé **672** avec la MVC, ce qui donne un mélange contenant principalement du produit de Heck **691** et de hydro-arylation **690** en mélange 1 :1, chacun ayant subi une élimination de l'iode aliphatique, mais avec un faible rendement inférieur à 10% (Schéma 137).

363 Voir par exemple: S. Lin, G.-L. Zhao, L. Deiana, J. Sun, Q. Zhang, H. Leijonmarck, A. Cordova, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 13930-13934.

364 Revue récente sur les réactions domino : H. Pellissier, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 442-524.

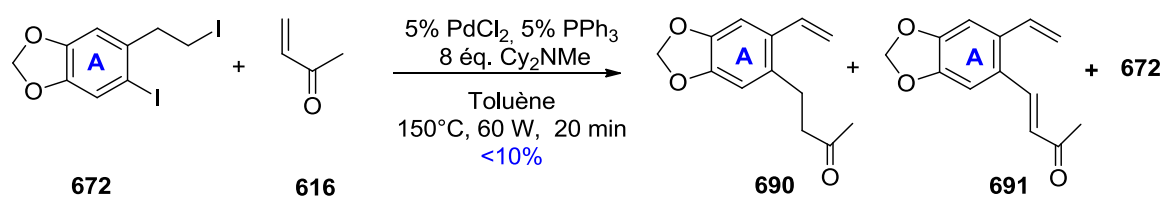


Schéma 137

5) Couplage de Heck avec l'acétate iodé 667

a) Avec des oléfines α -substituées

Dans cette étude, nous avons tenté de coupler le dérivé acétate iodé **667** portant l'iode aromatique en ortho de la chaîne latérale, avec les différentes oléfines que nous avons synthétisées : les monoacétate d'énol **618** et monoéther d'énol méthyle **677** de la butanedione, le diène silylé **682** ainsi que l'acétamidoacrylate **628** et le méthacrylate de méthyle **641** (Schéma 138). Comme précédemment, nous avons commencé par les conditions de l'essai 2 dans le toluène (Tableau 37).

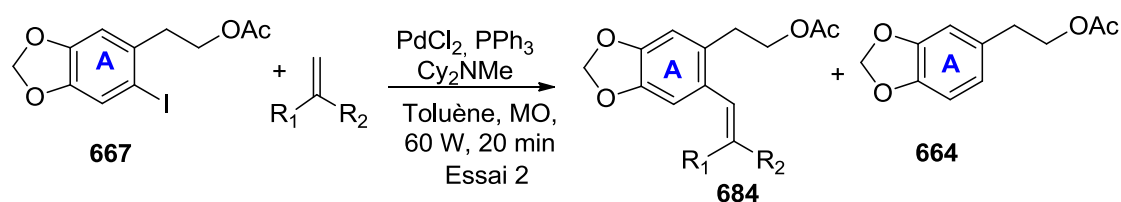


Schéma 138

Tableau 37 : Couplage de Heck de l'acétate iodé **667** avec des oléfines α -substituées (Essai 2 dans le toluène)

N	Oléfines			Rendement %		
	Numéro des oléfines	R ₁	R ₂	684	667 I	664 R
1	618	OAc	COMe	-	-	100
2	682	OSiMe ₂ tBu	C(OSiMe ₂ tBu)CH ₂	-	100	-
3	628	NHAc	CO ₂ Me	-	100	-
4	677	OMe	COMe	-	-	100
5	641	Me	CO ₂ Me	18	-	-

I : acétate iodé, R : acétate réduit

De façon surprenante, les produits de couplage n'ont pas pu être obtenus, et les seuls produits de réaction sont soit le dérivé iodé de départ **667** inchangé (tableau 37, entrées 2 et 3) soit le produit qui a subi une réduction de la liaison C-I, l'acétate **664** (tableau 37, entrées 1 et 4). Seul le méthacrylate de méthyle a conduit à 18% de produit de Heck attendu **685** (tableau 37, entrée 5).

b) Couplage avec la méthyl vinyl cétone

Face à ces résultats peu concluants, nous nous sommes tournés vers le couplage de l'iodé acétate **667** avec la MVC **616** dont le carbone C3 devra être par la suite oxydé.

b1) Matrice d'expérience

De façon surprenante, en appliquant ces mêmes conditions de l'essai 2 dans le toluène (Tableau 22, page 188) avec le composé iodé acétate **667** et la MVC **616** (Schéma 139), nous avons obtenu le produit **692** issu d'une réaction de Heck réductrice (hydroarylation)³⁶⁵ avec 70% de rendement accompagné du produit de couplage de Heck **687** attendu avec 20% de rendement (Tableau 38, entrée 2).

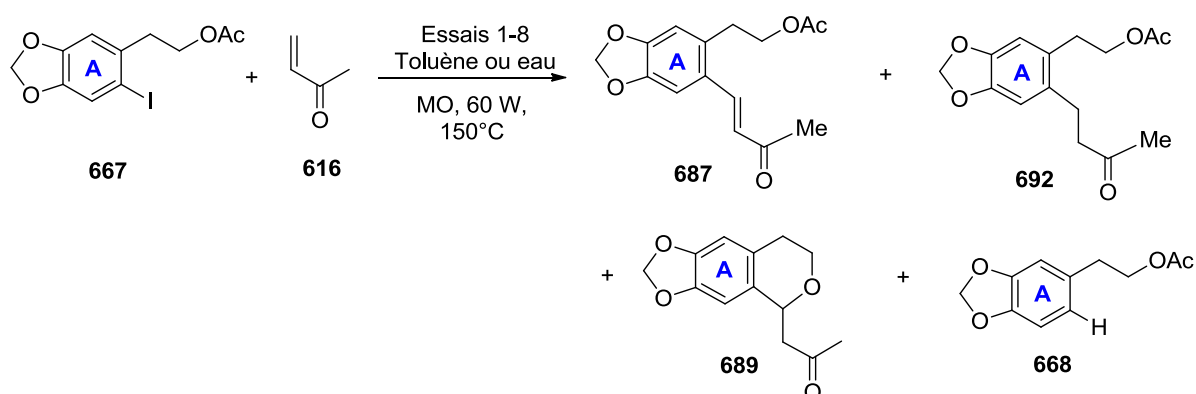


Schéma 139

En dépit de ce résultat encourageant, nous avons décidé d'appliquer les conditions des essais 1-8 (Tableau 23, page 189) avec le composé **667**, qui nous permettent d'obtenir le produit de couplage **687** (entrée 7) avec 54% de rendement dans l'essai 8, alors qu'avec l'alcool iodé **663b** dans le toluène, nous avons obtenu le produit de couplage de Heck **686**, mais en faible rendement de 18% (Tableau 37, entrée 5, p 209).

Comme avec le modèle 2-iodoanisole **626**, où la réaction dans l'eau a fourni le produit de couplage de Heck (Schéma 140), ainsi nous avons obtenu le produit de couplage de Heck

³⁶⁵ A. Minatti, X. Zheng, S. L. Buchwald, *J. Org. Chem.*, **2007**, 72, 9253–9258.

687 avec 69% de rendement accompagné du produit d'hydro-arylation de Heck **692** avec 23% de rendement dans les conditions de l'essai 2 dans l'eau (Tableau 38, entrée 3).

Tableau 38 : Matrice d'expériences de Heck réaction de l'acétate iodé **667** avec la MVC **616** dans le toluène et dans l'eau

Conditions					Rendement%					
N	Essais	Catalyseur 5 mol %	Ligand 5 mol %	Base 8 éq.	Solvant	687 H	692 HR	689 OM	668 R	667 I
1	1	Pd(OAc) ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe	Toluène	9	12	-	-	79
2	2	PdCl₂	PPh₃	Cy₂NMe	Toluène	20	70		10	-
3	2	PdCl₂	PPh₃	Cy₂NMe	Eau	69	23	8	-	-
4	3	Pd(OAc) ₂	dppf	Cy ₂ NMe	Toluène	38	20		6	36
5	3	Pd(OAc) ₂	dppf	Cy ₂ NMe	Eau	48	29	8	7	6
6	4	PdCl ₂	dppf	Cy ₂ NMe	Toluène	-	-	-	-	100
7	5	Pd(OAc) ₂	PPh ₃	NaOAc	Toluène	-	-		-	100
8	6	PdCl ₂	PPh ₃	NaOAc	Toluène	-	-		-	100
9	7	Pd(OAc) ₂	dppf	NaOAc	Toluène	54	15		-	30
10	8	PdCl ₂	dppf	NaOAc	Toluène	29	8		-	63

H : Heck, HR : hydro-arylation de Heck, I : acétate iodé, OM : oxa-Michael, R: acétate réduit

Cette réaction s'apparente à l'addition conjuguée pallado-catalysée ou hydroarylation des halogénures d'aryle sur les énonés, traditionnellement conduite en présence d'acide formique ou de formiate, qui joue le rôle de réducteur.³⁶⁶ Cependant, quelques exemples d'hydroarylation ont été décrits en l'absence d'agent réducteur.³⁶⁷

Ce résultat surprenant peut s'expliquer en considérant le mécanisme de la réaction de Heck. Normalement, après l'insertion du palladium dans la liaison carbone-iodé, et la coordination de la MVC, la *syn*-addition conduit à un intermédiaire σ -palladié qui va faire une rotation pour pouvoir subir une *syn* β -élimination de HPdI conduisant au produit de couplage insaturé attendu (Schéma 140). Si la base joue le rôle d'un ligand du palladium et vient transférer un hydrure sur le palladium avant la rotation de l'espèce σ -palladiée, le produit de Heck réducteur se formera.³⁶⁸

366 (a) S. Cacchi, A. Arcadi, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 4236. (b) A. Wellberg, G. Magnusson, *Tetrahedron*, **2000**, 56, 8533-8537.

367 T. Tobrman, D. Dvorak, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 273-276.

368 La complexation d'une amine tertiaire avec le palladium(II) suivie d'une insertion de métal et une β -élimination d'hydrure a déjà été caractérisée : (a) Konopelski, J. P.; Chu, K. S.; Negrete, G. R. *J. Org. Chem.*

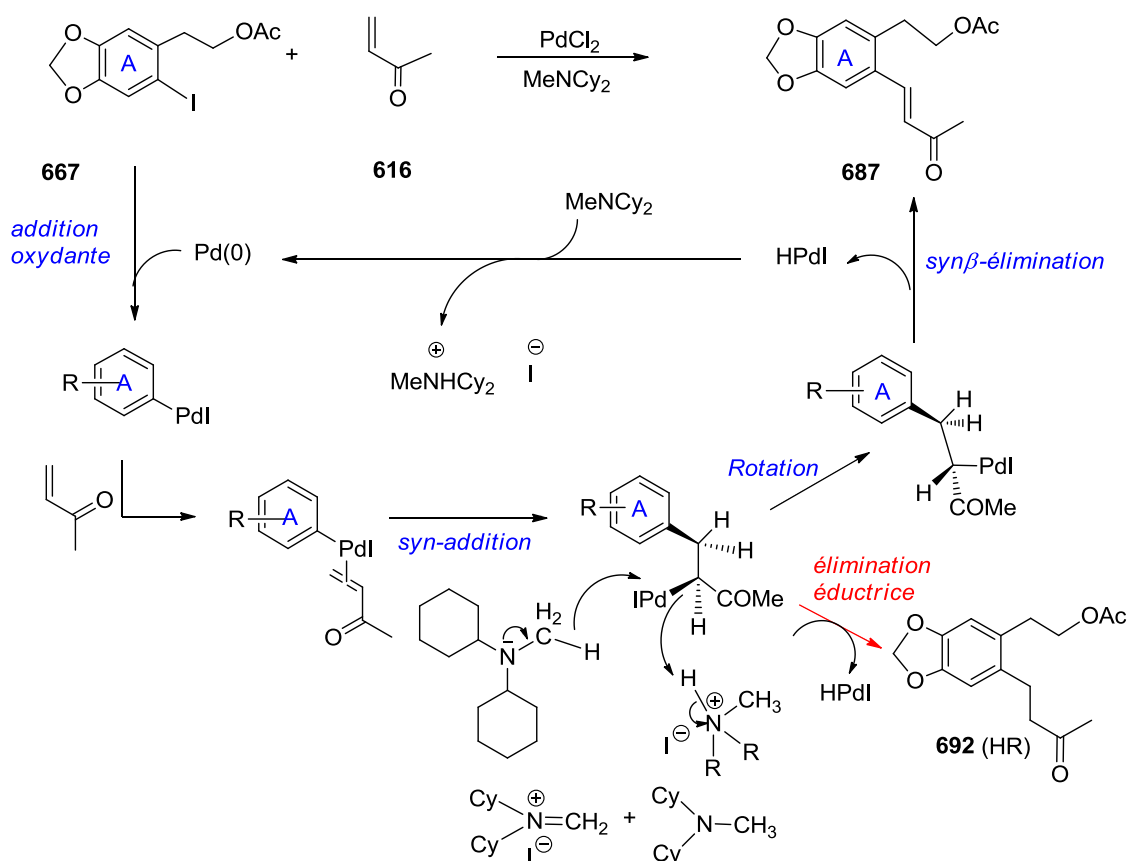


Schéma 140

b2) Autres paramètres de la réaction

Plusieurs réactions ont été réalisées avec des temps de réaction différents afin de trouver les meilleures conditions pour pouvoir comparer les catalyseurs. Nous avons ainsi fait varier le temps de réaction entre 10, 20 et 40 min sous irradiation MO.

Les rendements et les conversions de chaque réaction sont présentées dans le tableau 39, qui a montré que le PdCl_2 s'est avéré être le catalyseur le plus efficace pour ce couplage par rapport au $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ qui est utilisé par Fu pour la réaction de couplage, et le meilleur temps pour former le produit de couplage est 20 min (Tableau 39, entrée 4), ainsi nous avons formé le produit attendu de Heck en 69% de rendement et 23% de rendement pour le produit de Heck réductrice.

Tableau 39 : Influence du catalyseur et du temps de la réaction dans l'eau à 150 °C

Conditions					Rendement %				
N	Catalyseur 5%	Ligand 5%	Base 8 éq.	Temps. min	687 H	692 HR	689 OM	668 R	667 I
1	PdCl ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe	10	15*	-	-	-	85*
2	Pd ₂ dba ₃	PPh ₃	Cy ₂ NMe	10	-	-	<10	38	-
3	PdCl ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe	20	69	23	8	-	-
4	PdCl ₂	PPh ₃	Cy ₂ NMe	40	35*	35*	30*	-	-

* : (Conversion déterminée par RMN) %, H : Heck, HR : hydro-arylation de Heck, I : alcétate iodé, OM : oxa-Michael, R: acétate réduit

Nous avons aussi voulu évaluer l'effet d'un autre paramètre, c'est l'influence du nombre équivalents de la base de 1,1 à 8 équivalents. Comme illustré dans le tableau suivant 40 nous avons observé une augmentation de rendement avec l'eau du nombre d'équivalents de base (Tableau 40, entrée 1), le produit de couplage **687** a été obtenu avec 25% de rendement avec 1,1 équiv de Cy₂NMe, par contre avec 8 équivalents au lieu de 1,1 équivalents (Tableau 40, entrée 4), le composé **687** est formé avec 69% de rendement. Ces résultats reflètent que le nombre d'équivalents de base est très important pour l'amélioration du rendement de la réaction.

Tableau 40 : Influence du nombre d'équivalents de base de la réaction de 667 avec la MVC 616 dans l'eau et influence du type d'appareil micro-onde à 150 °C en 20 min.

Conditions				Rendement %				
N	Système catalytique	SM	Base éq.	687 H	692 HR	689 OM	668 R	667 I
1 a	Essai 3	667*	1,1	25	-	42	7	
2 a,*	Essai 3	667*	8	9	8	7	-	
3 a	Essai 2	667*	1,1	23	40	11	-	-
4 a	Essai 2	667*	8	69	23	8	-	-
3 b	Essai 2	667	8	16*	71*	-	13*	-
4 b	Essai 2	667	8	36*	58*	-	6*	-
5 b	Essai 2	667	8	38*	55*	-	7*	-

a : Appareil CEM, b : Appareil Anton Para, H : Heck, HR : hydro-arylation de Heck, I : alcétate iodé, OM : oxa-Michael, R: acétate réduit, * : suite à une fuite du réaction seule la proportion des produit représente l'expérience, une perte important de brut ayant eu lieu. * : 10% d'alcool iodé dans l'acétate. Essai 3 : Pd(OAc)₂, dppf, Cy₂NMe ; Essai 2 : PdCl₂, PPh₃, Cy₂NMe..

Également nous avons apprécié l'effet de notre condition déterminée avec autre type d'appareil de MO sur le couplage de Heck, et nous avons observé les mêmes résultats précédemment obtenus avec le MO monomode CEM (Tableau 40, entrées 3-5).

b3) Réactions de Heck en transfert de phases

La réaction du dérivé acétate iodé avec la MVC **616** a été systématiquement étudiée en présence de systèmes catalyseur formés par quantité catalytique d'acétate de palladium 5 mol%, avec la triphénylphosphine et un sel de chlorure de tétrabutylammonium en combinaison avec le carbonate de potassium comme une base inorganique, donc une quantité stoechiométrique de sel et de même, ont été utilisés dans la réaction (Schéma 141), les résultats présentés au tableau 41 montrent clairement que les réactions peuvent même être efficacement réalisées dans des conditions douces (50 °C ou température ambiante) dans l'eau, sans solvant organique.

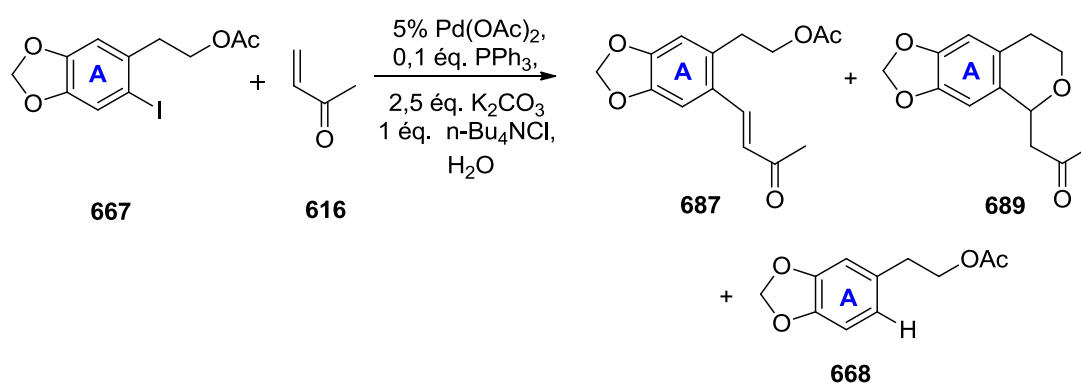


Schéma 141

Ainsi, nous avons isolé le produit de couplage avec 65% de rendement en 2 h à 50 °C (Tableau 41, entrée 3), cependant (Tableau 41, entrée 5), a montré que le produit de tandem Heck a été obtenu avec 67% en 42 h à température ambiante si on a augmenté l'échelle de produit de départ c'est-à-dire 3,80 mmol au lieu de 0,380 mmol, et nous avons observé la perte de l'acétate qui forme le produit d'oxa Michael par une addition d'un alcool à un accepteur conjugué, cela rend les réactions intermoléculaires en particulier oxa-Michael, avec 77% de conversion en RMN et 35% d'acétate réduit sous MO en 20 min à 150 °C alors que, le couplage n'a pas été observé à température ambiante à 24 h (Tableau 41, entrée 4).

Tableau 41: Résultats du couplage de Heck de l'acétate iodé **667** avec la MVC **616** dans les conditions de Jeffery.²⁶⁸

Conditions					Rendement %		
N	Echelle mmol	Temps	Activation	667 I	689 OM	668 R	687 H
1	3,80	20 min	MO, 60 W, 150 °C	-	35*	30*	35*
2	0,380	20 min	MO, 60 W, 150 °C	-	-	77*	33*
3	0,380	2 h	50 °C	-	65	-	-
4	0,38	24 h	Ta	100	-	-	-
5	3,80	42 h	Ta	-	67	28	5

Conditions : 5 mol % Pd(OAc)₂, 5 mol % PPh₃, 2,5 éq. K₂CO₃, 1 éq. *n*-Bu₄NCl, H₂O

*: (Conv. RMN) %, *H* : Heck, *I* : acétate iodé, *OM* : oxa-Michael, *R* : acétate réduit.

6) Couplage de Heck des unités AC

Nous avons cherché à faire réagir les dérivés aromatiques halogénés AC qui ont été préparés précédemment avec différentes oléfines et dans des conditions sélectionnées, soit par analyse des données bibliographiques (conditions de Fu), soit d'après nos essais d'optimisation de Heck modèle avec le 2-iodoanisole **626**.

a) Couplage de l'unité AC bromée en conditions de Fu

En 1999, Fu et Littke ont rapporté le couplage de Heck d'acrylate de méthyle ou de styrène avec une variété de bromures ou chlorures d'aryles non activés à l'aide de P(tBu)₃ comme ligand,²⁰⁶ avec une préférence similaire étant trouvée dans une étude préalable par Hartwig.³⁶⁹ Le rapport initial de Fu, a indiqué l'utilisation de Cs₂CO₃ comme base, avec des températures de réaction de 100 à 120 °C, mais les conditions sont plus douces lorsque la base est changée pour Cy₂NMe, comme initialement montré par Buchwald.³²⁵

La réaction de **555a** ne conduit pas au produit de couplage avec la méthyl vinyl cétone **616** qui est stable dans les conditions de Fu décrites pour coupler des aromatiques bromés y compris pour des systèmes encombrés et désactivés, en utilisant un ratio [1 :1] [Pd :ligand phosphine] dans le dioxane il reste toujours du produit de départ **555a** (Schéma 142).

369 K. H. Shaughnessy, P. Kim, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 2123.

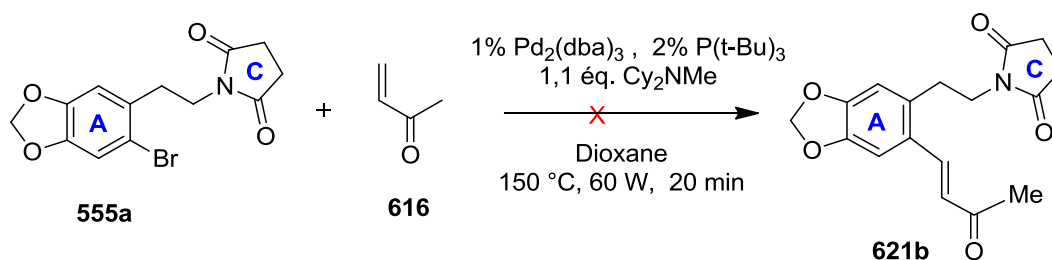


Schéma 142

b) Couplage de l'unité AC iodée en conditions optimisées

Comme nous n'avons pas obtenu le produit de couplage ni avec l'unité AC bromée et le dérivé iodé **555b** dans les conditions de Fu et celles de Jeffery sous MO, nous avons décidé de faire la réaction de l'unité AC iodée **555b** sous les conditions étudiées précédemment (Schéma 143). Les premiers résultats avec l'unité AC **555b** dans les conditions 2 dans le toluène sont décevantes, le produit de Heck ayant été obtenu avec 7% de rendement (Tableau 42, entrée 4). Ce mauvais résultat nous a conduit à essayer la réaction de Heck dans l'eau dans les conditions de l'essai 2 mais le rendement en produit **621a** ne dépasse pas de 14% (Tableau 42, entrée 5).

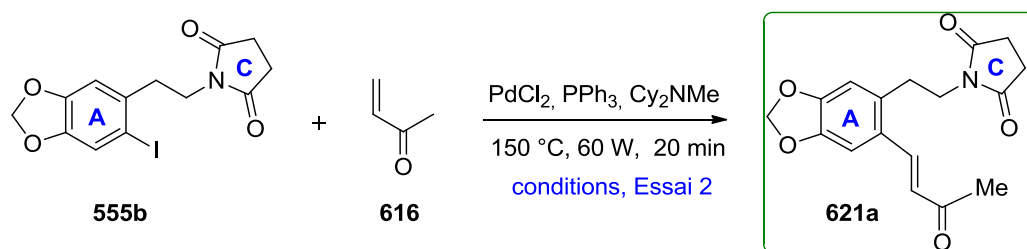


Schéma 143

Tableau 42: Couplage de Heck avec les conditions optimisées

Conditions, Essai 2		Rendement %	
N	Solvant	621a	555b
1	H ₂ O	< 5%	-
2	Toluène	57*	43*
3	Toluène	6	-
4	Toluène	7	-
5	H ₂ O	14	-

*: (Conversion déterminée par RMN) %

En conclusion, les résultats présentés ci-dessus confirment l'efficacité de nos conditions optimisées pour la réaction de couplage de Heck permettant d'avoir de bons

résultats en produits de couplage. Un nouveau processus tandem Heck/oxa-Michael très peu décrit dans la bibliographie a été démontré et des conditions simples nous permettent de préparer sélectivement soit le produit de couplage de Heck insaturé soit le produit de Heck réducteur saturé. Cependant, nous n'avons pas trouvé le système catalytique adapté, que ce soit avec les meilleures conditions de la bibliographie pour des systèmes désactivés et encombrés ou avec nos conditions optimisées grâce au plan d'expérience.

VII. Elaboration du motif 1,2-dicétone

Parallèlement à nos études de couplage de Heck avec la MVC **616**, nous avons tenté de valoriser les produits obtenus par oxydation regioselective en position C₃.

Cette oxydation peut se faire par deux voies : soit par oxydation directe du produit de Heck insaturé, soit par oxydation du produit d'hydroarylation saturé, qui peut être également obtenu par hydrogénation catalytique du produit de Heck insaturé (Schéma 144).

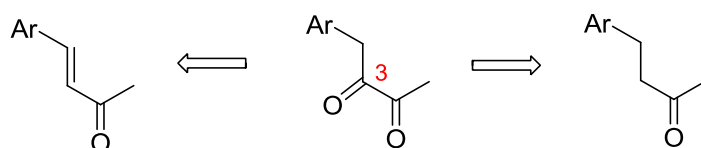


Schéma 144

1) Par oxydation de l'énone

La première méthode d'oxydation d'énone utilisée au laboratoire est celle proposée par Dufraisse et col,³⁷⁰ qui utilisent le brome et la pipéridine pour la formation directe d' α -dicétones avec un rendement moyen de 40% (Schéma 145).

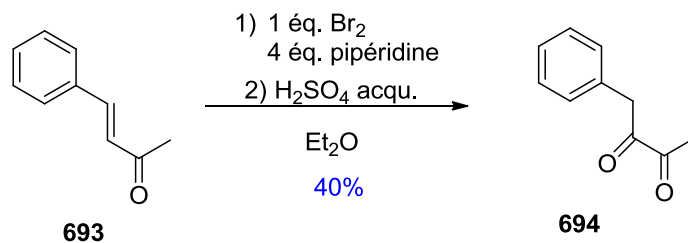
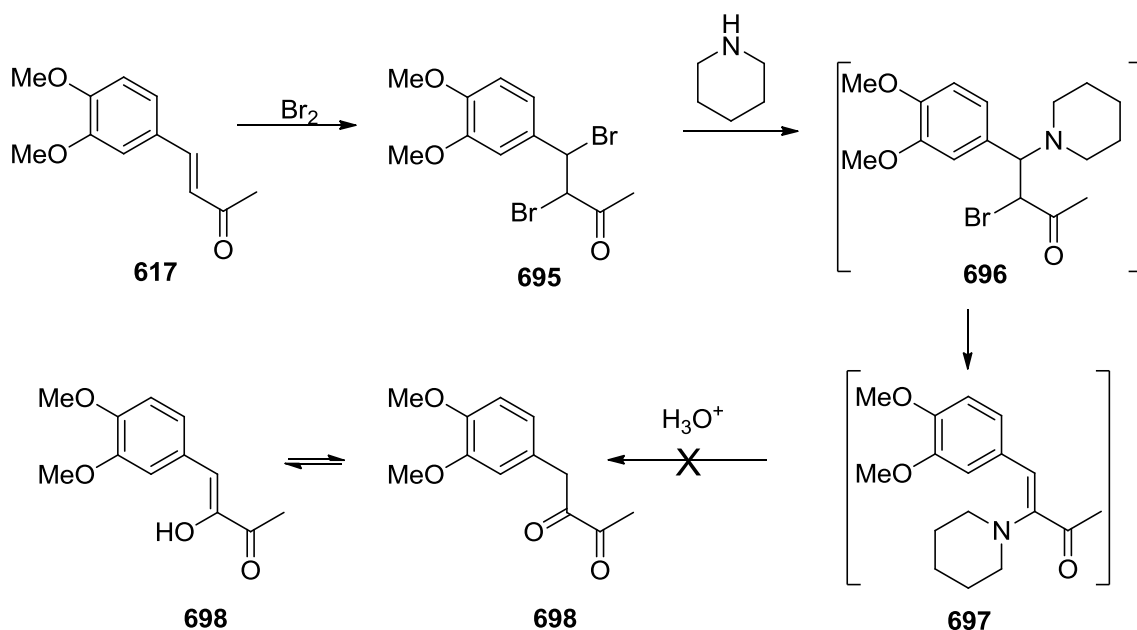


Schéma 145

Le produit de couplage de Heck **617** obtenu à partir du bromo-vératrole **615**, (Schéma 98, p 169) a été engagé dans ces conditions d'oxydation. Bien que ces essais aient montré la transformation de l'énone **617** et la formation d'intermédiaires, la dione **698**, ou son tautomère n'ont jamais pu être isolés. (Schéma 146).

L'absence de protocole expérimental précis et la succession d'intermédiaires rendant difficile la mise au point de cette réaction délicate, nous avons opté pour l'oxydation de la cétone correspondante.

370 C. Dufraisse, H. Moureu, *Bull. Soc. Chem. Fr.*, **1927**, 41, 99-101 et 1370-1378.

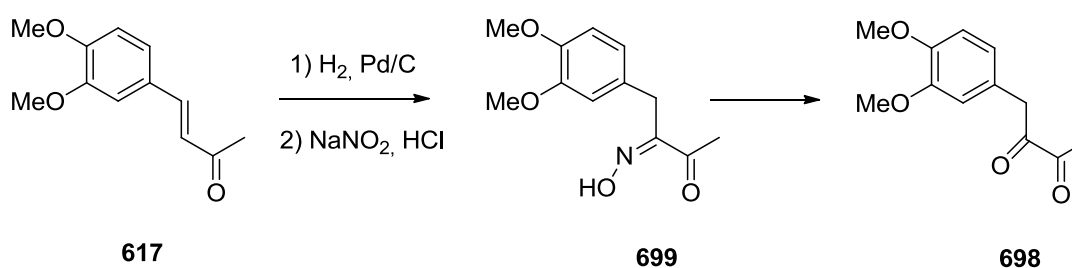


2) Par oxydation d'une α -méthylènécéton

Beaucoup d'efforts pour la préparation des α -dicétones ont été publiés, du fait de leurs activités biologiques intéressantes.³⁷¹ Néanmoins, bien qu'une vaste variété de méthodes ait été décrite dans la littérature pour les synthétiser, il y a peu d'attention pour la synthèse des α -dicétones à partir des α -méthylènécétones **696**.

a) Etudes sur un modèle

Nous avons tenté d'accéder à la dione modèle **698** à partir de l'énone **617**. Ceci a conduit à l'oxime intermédiaire **699** qui porte les bons degrés d'oxydation pour la formation du cycle D de la céphalotaxine. Cependant l'hydrolyse de cette oxime restait à étudier (Schéma 147).



371 M. Hudlicky, *Oxydations in organic chemistry*, ACS Monograph, **1990**, 186, 199-202.

Tout d'abord, nous avons utilisé le nitrite de sodium en milieu acide pour obtenir l'oxime en α de la cétone.³⁷² En effet, Rüedi a montré la formation directe de dicétones 1,2 à partir d' α -méthylènegétones **700**, en passant par la formation de l'oxime **701** intermédiaire qui est elle-même hydrolysée en α -dicétone **702** dans le milieu acide (Schéma 148).

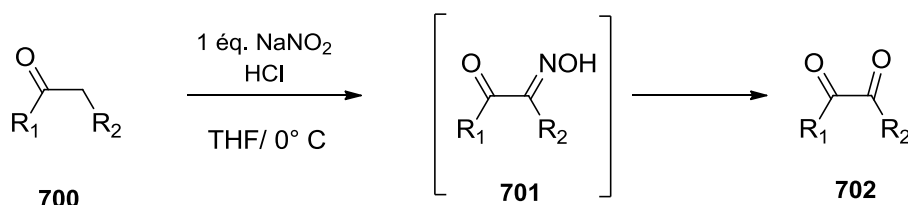


Schéma 148

Pour ce faire, nous avons tout d'abord synthétisé la butanone à partir d'un adduit de Heck (nous n'avons pas encore trouvé des conditions de Heck réducteur...). Les produits **703** et **704** formés au cours de la réaction d'hydrogénation catalytique de l'énone **617** en présence de Pd/C en température ambiante ont conduit invariablement à un mélange d'alcool **704** et de cétone **703** qui est le produit majoritaire résultant de l'hydrogénation de la double liaison en 1 h avec 80% de rendement. Nous avons du ensuite effectué une oxydation de l'alcool secondaire en cétone sur le mélange brut de produits pour obtenir la butanone désirée **703** avec un rendement de 90% grâce au réactif de Jones (H_2SO_4 / CrO_3) (Schéma 149).

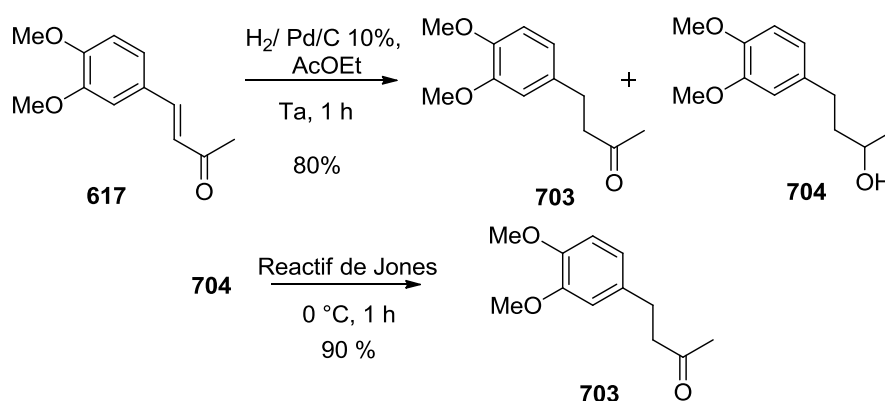


Schéma 149

Nous avons ensuite réussi à isoler l'oxime **699** dans les conditions illustrées dans le (Schéma 150), (Tableau 43, entrée 9) avec 57% de rendement, par contre nous n'avons pas observé les mêmes résultats avec le changement de solvant et le temps de réaction, soit la

372 G. Rüedi, M. A. Oberli, M. Nagel, C. Weymuth, H.-J. Hansen, *Synlett*, **2004**, 13, 2315–2318.

réaction n'est pas terminée, et il reste toujours le produit de départ **703** (Tableau 43, entrées 6-8-9-10-11), soit la réaction d'oxydation a eu lieu également sur le noyau aromatique si on laisse la réaction se faire trop longtemps (Tableau 43, entrées 4-5-7), dans l'entrée 3 nous avons obtenu un sous produit régioisomère qui est oxydé en β de la fonction carbonyle au lieu d'être oxydé en α - de la fonction carbonyle. Cette réaction est ainsi assez délicate à maîtriser.

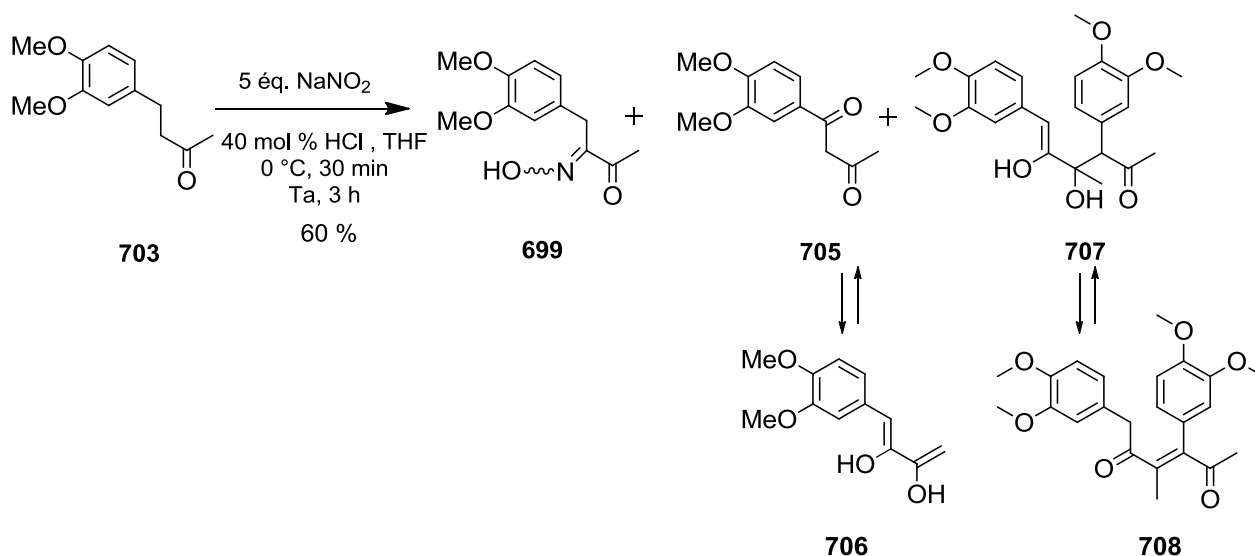


Tableau 43: Oxydation du composé **703** par le nitrite de sodium sous différentes conditions

Conditions					Rendement%			
N	NaNO ₂	Solvents	Temperature	Temps	699	705	703	707
1	5 équiv	THF	Ta	3 h	32	-	-	-
2	5 équiv	THF	Ta	3 h	57	-	-	-
3	5 équiv	Dioxane	Ta	4 h	38	19	-	-
4	5 équiv	Dioxane	Ta	8 h	La réaction a eu lieu sur l'aromatique			
5	1 équiv	Dioxane	Ta	6 h				
6	5 équiv	THF	Ta	3 h	60*	-	40*	-
7	5 équiv	THF	Ta	24 h	-	-	-	25
8	5 équiv	THF	Ta	1 h	21*	-	89*	-
9	5 équiv	THF	Ta	1 h	22*	-	88*	-
10	5 équiv	THF	Ta	8 h	18*	-	82*	-
11	5 équiv	THF	Ta	6 h	18*	-	82*	-

*:(Conv.RMN)%

La détermination des structures de sous produit par RMN ^1H et ^{13}C a été difficile, vers 3,9 ppm en ^1H , il y a un paquet difficilement attribuable de singulets au lieu de 2 singulets seulement pour les deux groupes méthoxy aromatiques. Et vers 6,5-7,5 ppm aussi il ya un mélange des protons aromatiques au lieu des 3 protons couplés entre eux comme dans le produit de départ. De même, le spectre ^{13}C montre une disparition de pic de résonance du carbonyle de **669** vers 170 ppm ou bien du carbonyle en β vers 205 ppm.

Pour la suite de notre stratégie, nous avons oxydé ou hydrolysé le composé α -céto-oxime **699** obtenu dans les conditions du Tableau 43, entrée 2, (Schéma 151), selon différents conditions de préparation des α -dicétones **698** publiés dans les littératures,^{373,374,375,376} (Tableau 44).

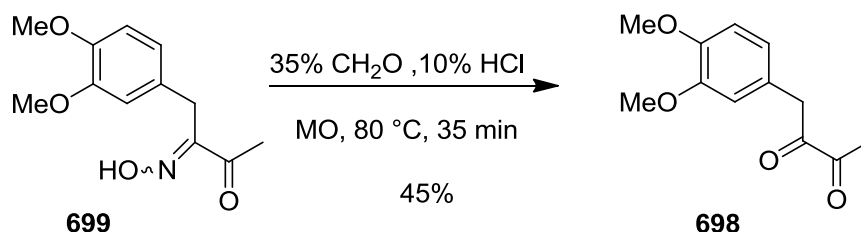


Schéma 151

Tableau 44 : Hydrolyse de l'oxime 699 en dione 698

N	Conditions	Solvant	Température	Temps	Rdt %
1	3 éq. NaNO ₂ , 3 éq. Amberlyste 15	Dioxan	70 °C	1h30	Dégradation
2	5 éq. NaNO ₂ , 1 éq. NBS	CCl ₄	25 °C	4 h	Dégradation
3	1 éq. HCl 10%, 1 éq. CH ₂ O, MO	EtOH	80 °C, 300W	12 min	(15 / 85) *
4	1 éq. HCl 10%, 1 éq. CH ₂ O, MO	EtOH	80 °C, 300W	20 min	Dégradation
5	1 éq. HCl 10%, 1 éq. CH ₂ O, MO	EtOH	80 °C, 300W	35 min	45%

*(Conversion déterminée par RMN)%

373 B. P. Bandgar, Miss. Lalita, B. Kunde and J. L. Thote, *Synth. Commun.*, **1997**, 7, 1149-1152.

374 (a) M. Tajbaksh, A. Khazaei, M. Shabani Mahalli, R. Ghorbani Vaghei, *Russ. J. Org. Chem.*, **2003**, 39, 105331054. (b) N. Venkatasubramaanni, V. Thiagarajan, *Canad. J. Chem.*, **1969**, 47, 694. (c) A. Khazaei, R. Ghorbani Vaghei, *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 3073-3074.

375 M. M. Lakouraj, M. Noorian, M. Mokhtary, *React. Funct. Poly.*, **2006**, 66, 910-915.

376 M. P. Cava, D. R. Napier, *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 7, 1701-1705.

Après plusieurs essais tels que montrés dans le tableau 44, la dicétone 1,2 **698** a été obtenue en 35 min à 80 °C sous MO avec 45% de rendement isolé (Tableau 44, entrée 5). Notons que la publication originale traite exclusivement de 1,2-dicétones incluses dans un cycle aliphatique, ce qui modifie leurs réactivités par rapport aux cétones et dione 1,2 linéaires.

Quoiqu'il en soit, le manque de sélectivité de cette réaction nous a conduit à rechercher une autre voie d'accès à la dione 1,2. D'autres méthodes devront être employées afin d'obtenir la dicétone **698**, modèle pour l'élaboration du composé **698**.

b) Fonctionnalisation d'un synthon A

Ces derniers résultats nous ont servi à compléter notre stratégie de synthèse vers la CET **1**. Nous avons essayé de créer une fonction α - carbonyle pour obtenir la dione nécessaire à la fermeture du cycle B. Deux voies ont été essayées, l'une a conduit à l'oxime **709** et l'autre à l'époxyde **100** (Schéma 152 et 155) qui sera ensuite transformé en dione 1,2.

Afin d'apporter le fragment nécessaire à la formation ultérieure du cycle D, nous sommes revenus vers le produit de Heck **687** qui est hydrogéné de la même façon qui a été décrite avec le modèle **703** issu du vétratrole (Schéma 149) et ceci avant qu'il soit utilisé pour la réaction d'oxydation en dione 1,2 (Schéma 152).

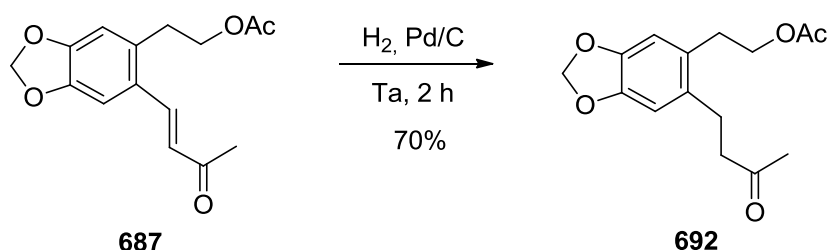


Schéma 152

Par contre, le composé **692** qui a été préparé par couplage de Heck réducteur avec les conditions optimisées avec 70% de rendement (Tableau 38, page 225) a servi directement pour l'oxydation par le nitrite de sodium en excès (5 éq.) à température ambiante et nous avons pu isoler l'oxime attendue **709** avec un faible rendement de 17%. Sa structure a été déterminée par RMN et par spectrométrie de masse à haute résolution (Schéma 153).

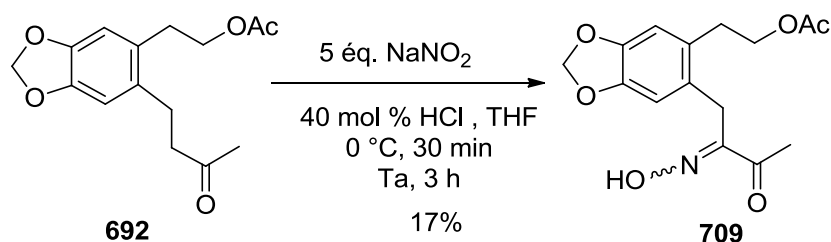


Schéma 153

Nous avons quand même complété notre réaction d'hydrolyse de l'oxime **709** pour arriver au composé α -dione **710** recherché en utilisant 1 éq. HCl 10%, 1 éq. de solution aqueuse de formaldéhyde à 35 mol%, par chauffage MO en 35 min à 80 °C (entrée 5, Tableau 44, p 236) dans les conditions qui avaient conduit à la dione modèle **698** avec 45% de rendement (Schéma 154). Nous avons remarqué que le signal pour le carbonyle de l'ester vers 170 ppm dans le spectre de RMN C^{13} est absent, ce qui traduit une perte de la fonction acétate par hydrolyse. Ceci a été confirmé par l'examen du spectre de RMN 1H où le singulet de l'acétate vers 2 ppm est absent et en IR.

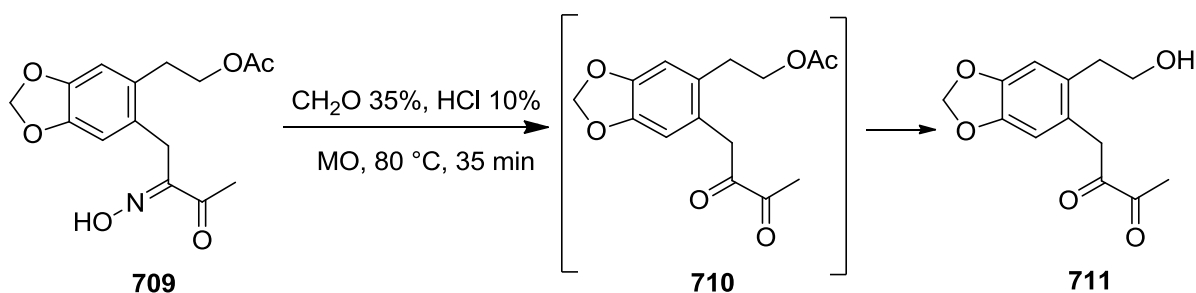


Schéma 154

Ces mauvais résultats, nous ont poussés à essayer l'alternative de l'époxydation du produit **687**. Alors à partir du composé **687** qui va subir une oxydation en époxyde **712**³⁷⁷ suivie d'un clivage oxydatif pour conduire au composé **710** (Schéma 155). Nous avons observé que le produit de Heck a bien réagi et nous avons obtenu un mélange de produit en faible quantité dans lequel la fonction acétate a été hydrolysée en partie. Néanmoins l'époxyde acétate a pu être obtenu avec 25% de rendement. Comme la réaction se fait en milieu basique et en présence d'eau, cela peut être expliqué l'hydrolyse partielle de la

377Y. Seung Gak, H. Je Pil, P. Min Young, L. Kieseung, K. Yong Hae, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 5184-88.

fonction acétate pour former l'alcool correspondant qui est réagit ensuite avec l'époxyde formé.

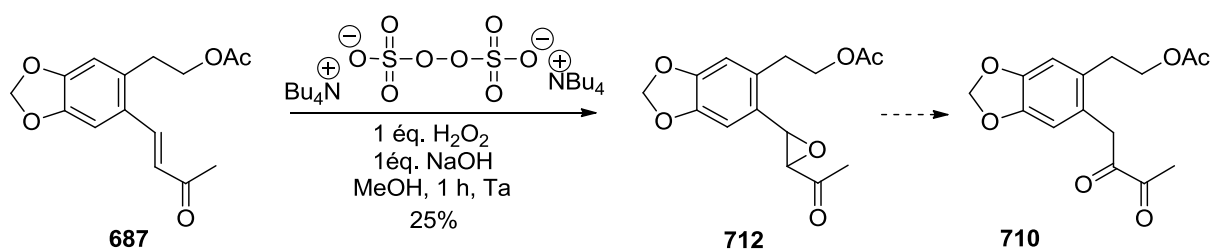


Schéma 155

Cette réaction d'époxydation devra être améliorée et effectuée en milieu biphasique ou anhydre pour conduire à la dione 1,2 désirée **710** avec une bonne efficacité.³⁷⁸

378 (a) N. Hashimoto, A. Kanda, *Org. Proc. Res. Dev.*, **2002**, 6, 405-406. (b) C. L. Chang, M. P. Kumar, R.-S. Liu, *J. Org. Chem.*, **2004**, 69, 2793-2796.

VIII. Conclusion

Les vertus thérapeutiques des extraits de plantes du genre *Cephalotaxus* sont connues depuis très longtemps en Chine où ils font partie de la pharmacopée traditionnelle notamment pour le traitement des leucémies. Des chimistes se sont intéressés à l'extraction, à la détermination de la structure, à la biogenèse et à l'activité biologique des esters naturels de la céphalotaxine **1** (CET) dont ils sont issus, en vue de leur utilisation thérapeutique. De nombreux chimistes ont bien sûr tenté de les synthétiser pour s'affranchir de la ressource végétale rare et protégée. Parmi ces esters, l'homoharringtonine **2** (HHT) possède de remarquables propriétés antitumorales, notamment antileucémiques. Elle est utilisée pour cette indication en Chine et des études à grande échelle sont réalisées aux Etats Unis.

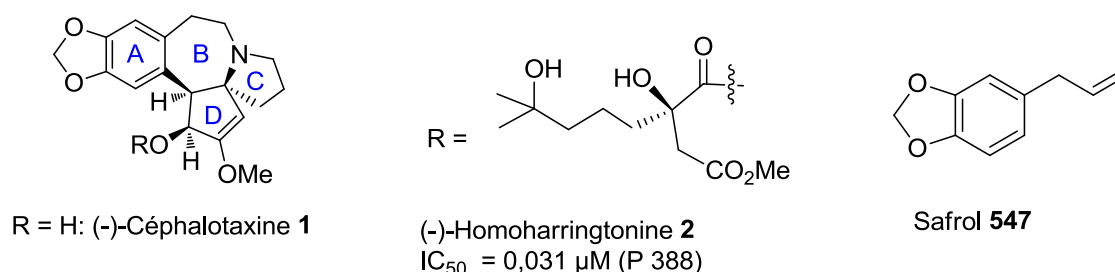


Figure 51

En Europe, des essais cliniques avancés sont en cours. Son activité est d'autant plus remarquable qu'elle s'étend aux leucémies qui résistent au traitement par le Glivec. Ces esters ou HHT **2** et leurs analogues sont ainsi des molécules très importantes à synthétiser dans le cadre du traitement de la leucémie. Pour l'instant l'HHT **2** est produite à partir de (-)CET **1** d'origine naturelle, par hémisynthèse. Cependant, sa purification est complexe et sa pureté insuffisante. En vue de l'utilisation en thérapeutique de l'HHT **2**, il est donc important de disposer d'une synthèse efficace de la (-)-CET **1** de grande pureté qui pourra permettre de s'affranchir de la ressource végétale rare.

L'objectif de mon travail de thèse est d'explorer une nouvelle stratégie de synthèse de la céphalotaxine **1**, dont l'étape clé est une cyclisation anionique (voir schéma 60, p 145) pour laquelle nous avons étudié l'accès à un précurseur **553** par réaction de Heck (Schéma 156).

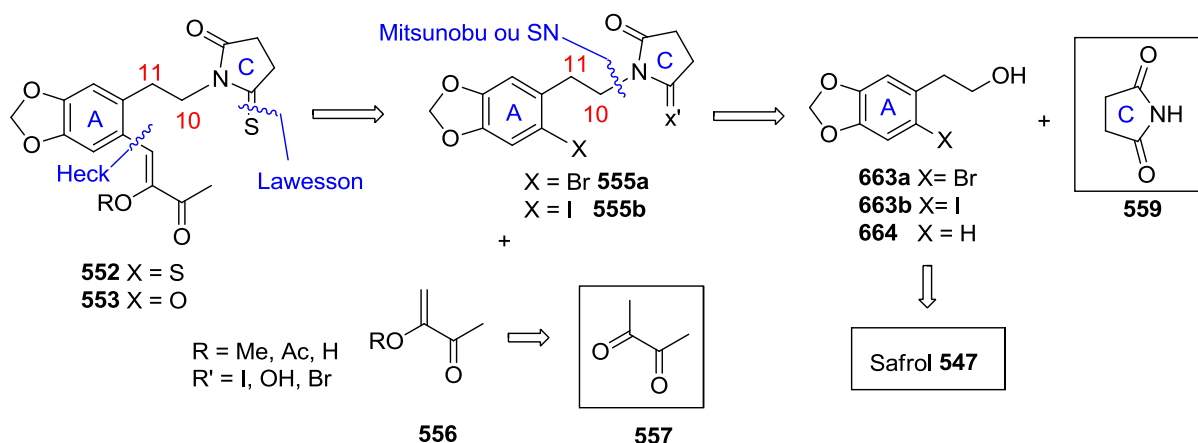


Schéma 156

Cette stratégie nécessitant le couplage de 2 fragments obtenus par synthèse, nous avons d'abord étudié la réaction de Heck sur un modèle plus simple, le composé aromatique iodé **626** et l'oléfine modèle **641**, qui représente à la fois la désactivation du noyau aromatique et l'encombrement stérique important du système (Schéma 157). Nous avons préparé le 3-(2-méthoxy-phényl)-2-méthyl-acrylate de méthyle **642**.

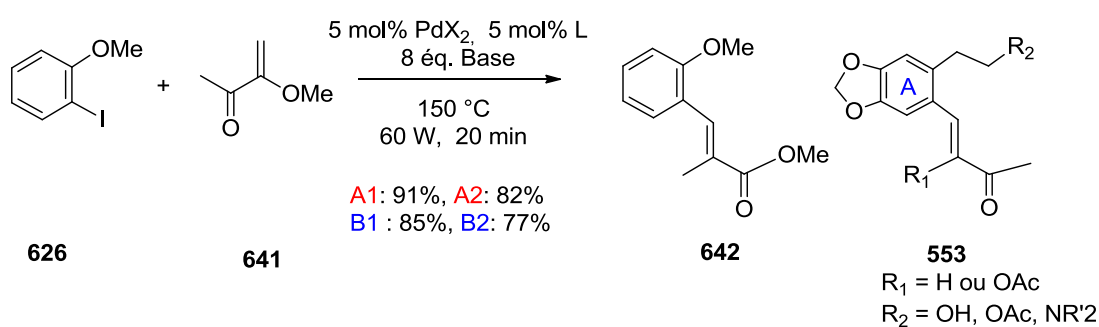


Schéma 157

Nous avons choisi de réaliser une optimisation de ce couplage par la méthode de plans d'expériences (Experimental design) fréquemment utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Cette méthode nous a permis de dégager les facteurs importants permettant de réaliser cette réaction de Heck "modèle" dans les meilleures conditions en seulement 8 essais au lieu de 128, permettant d'obtenir le produit désiré **642** dans le toluène (**A**) avec un rendement de 91% et dans l'eau (**B**) avec un rendement de 85%. Ces dernières conditions présentent un grand intérêt en chimie verte. Ces résultats sont très encourageants. Les meilleures conditions sont :

Dans le Toluène: **A1**: PdCl₂, PPh₃, Cy₂NMe (91%, essai 2), **A2**: PdCl₂, dppf, NaOAc (82%, essai 8).

Dans l'Eau: **B1**: Pd(OAc)₂, dppf, Cy₂NMe (85%,), **B2**: PdCl₂, PPh₃, Cy₂NMe (77%, essais 2).

Nous avons synthétisé différentes oléfines α -substituées. Ces oléfines sont obtenues à partir de la 2,3-butanedione dont la chaîne est porteuse de quatre atomes de carbone C1 à C4 du futur cycle D de la céphalotaxine et des fonctionnalités oxygénées en C2 et C3 (Figure 52).

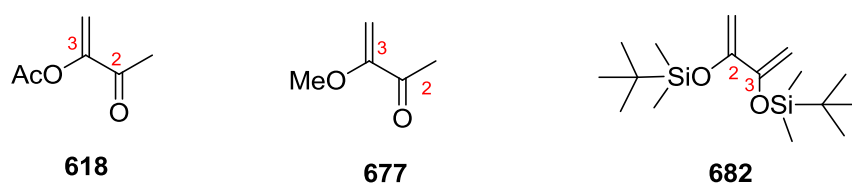


Figure 52

Ces oléfines se sont montrées trop instables dans les conditions **A** ou **B** de la réaction de Heck. L'étude a donc été menée avec la MVC **616** et il conviendra alors d'oxyder soit le produit d'hydrogénation **692** issu du couplage de Heck soit directement ce produit de couplage pour obtenir la dione recherchée totomère des intermédiaires **552** et **553**.

Différents dérivés aromatiques iodés ont été préparés à partir du safrole **547**. Des conditions optimales ont été définies pour la synthèse de chaque composé (Schéma 158), le rendement global de l'unité **555b** à partir du safrol est de 20% sur 4 étapes.

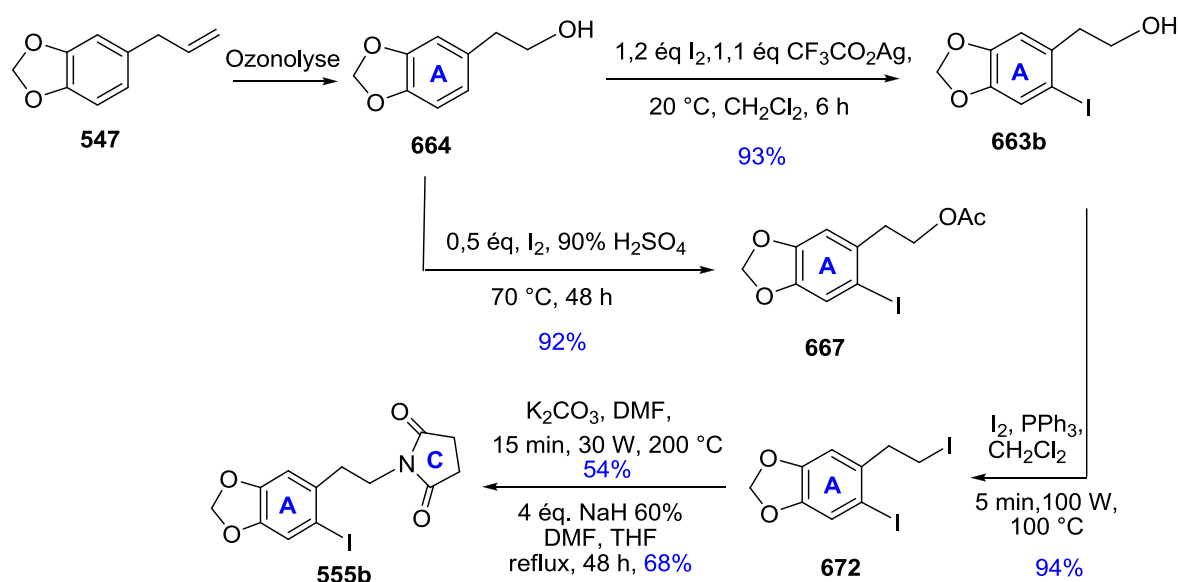


Schéma 158

Nous avons ensuite appliqué ces meilleures conditions de couplage de Heck (**A1**, **A2**, **B1** ou **B2**, Schéma 157) à des dérivés iodés portant un groupe méthylènedioxy, très

désactivant pour la réaction de Heck, en vue de la synthèse de la CET **1**. A partir de ces différents fragments qui ont été synthétisés, nous avons obtenu un produit de couplage de Heck **687** avec 69% de rendement à partir du dérivé acétate iodé dans les conditions de l'essai 2 (B2). De façon surprenante, dans les conditions de l'essai A1, c'est le produit d'hydroarylation ou Heck réducteur **682** qui est obtenu avec 70% de rendement. Le couplage de l'alcool iodé **663b** a fourni le produit de réaction tandem Heck/oxa-Michael **689** avec 82% de rendement selon les conditions A1 définies lors de l'étude "modèle" (Schéma 159).

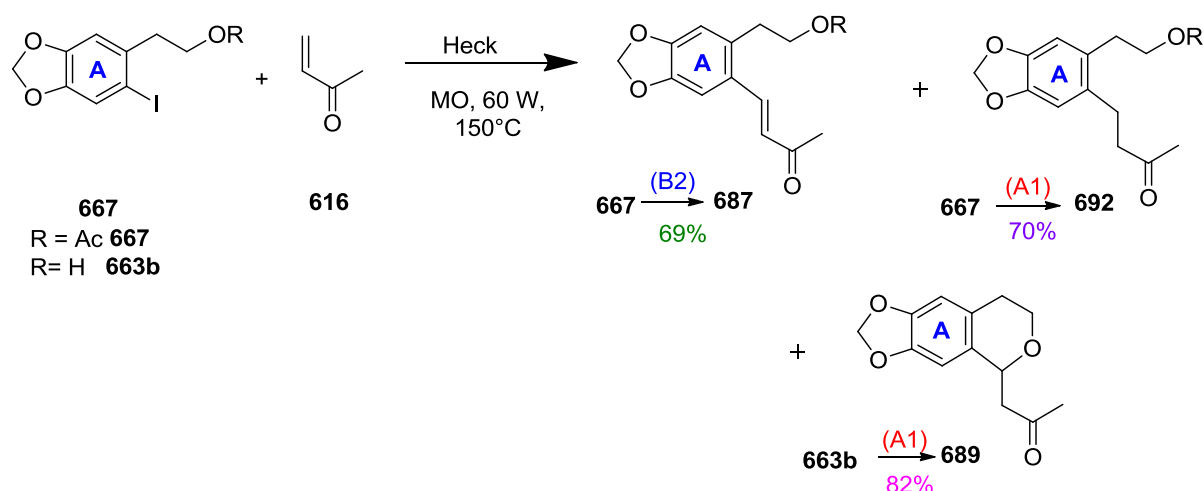


Schéma 159

Le couplage de l'alcool iodé **663b** avec la MVC **616** a fourni le produit de Heck attendu **686**, cependant avec un rendement modeste de 14-18% puisqu'il subit une réaction tandem d'oxa-Michael *in situ*. Le couplage du di-iodé **672** avec le MVC **616** dans les conditions A1 a fourni un mélange de produit d'hydro-arylation **690** et de produit de Heck avec un rendement inférieur à 10% qui a subi l'élimination de l'iodé primaire. Avec le dérivé succinimide iodé **555b**, le produit **621a** a été formé avec un rendement très faible (Schéma 160).

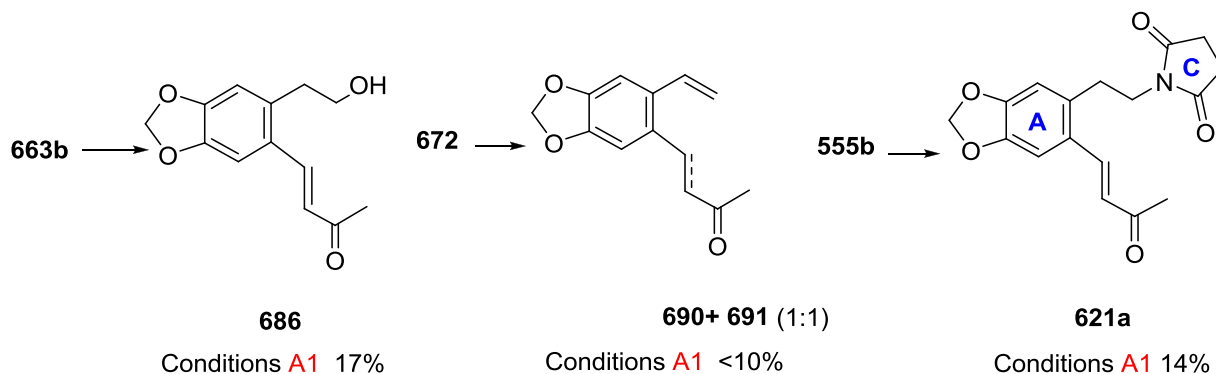


Schéma 160

Ensuite nous avons cherché à transformer un produit de couplage pour effectuer la fin de la synthèse. Pour cela, nous avons transformé le composé modèle **617** obtenu par réaction de Heck en α -oximecétone **699** qui est un précurseur potentiel de la 1,2-dione **698**, modèle de la dione **553** recherchée (Schéma 161).

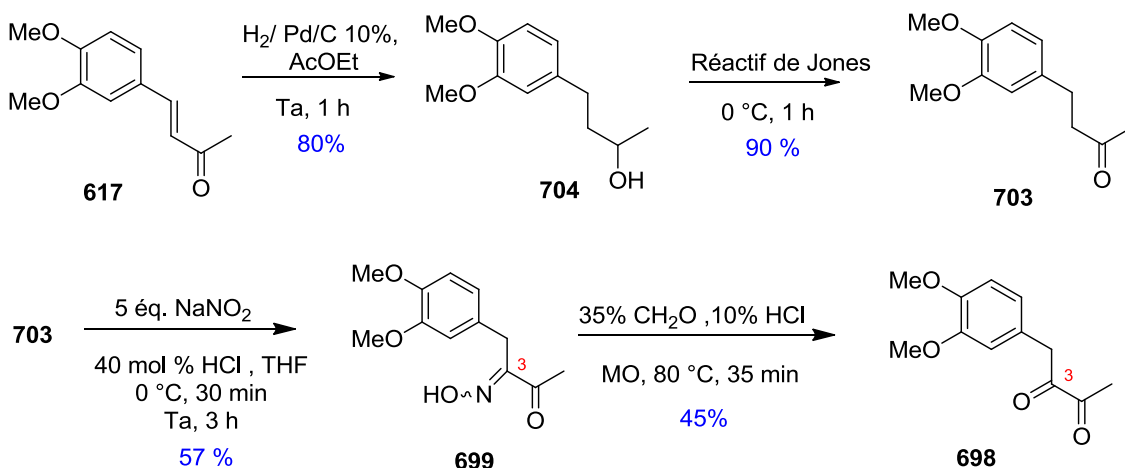


Schéma 161

Nous avons hydrolysé l'oxime **699** à 80°C sous MO pendant 35 min et la dione **698** a été isolée avec 45% de rendement (Schéma 161). Ces derniers résultats nous serviront à compléter notre stratégie de synthèse vers la CET **1**. Nous avons essayé de créer une fonction α -carbonyle pour obtenir la dione nécessaire à la fermeture du cycle B. Deux voies ont été essayées, l'une a conduit à l'oxime **709** avec rendement de 17%, et l'autre à l'époxyde **711** (Schéma 162) qui seront ensuite transformés en dione 1,2.

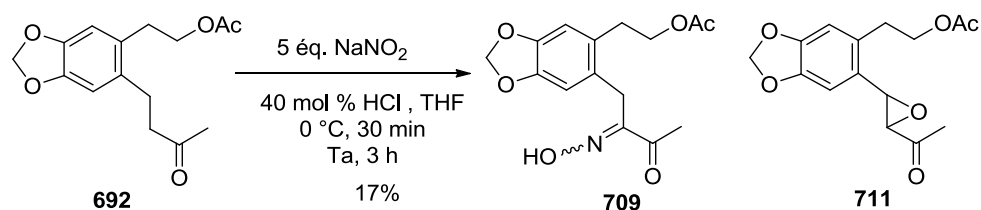


Schéma 162

Le travail expérimental issu de ces recherches permet d'envisager cette voie de synthèse pour accéder à la céphalotaxine **1** en 9 étapes à partir du safrol. Il conviendra d'améliorer la transformation conduisant à l'époxyde **711**, précurseur de la dione et in fine de substituer

l'acétate par un groupe succinimidyle pour obtenir le précurseur imide **553** en vue de la cyclisation anionique (Schéma 163).

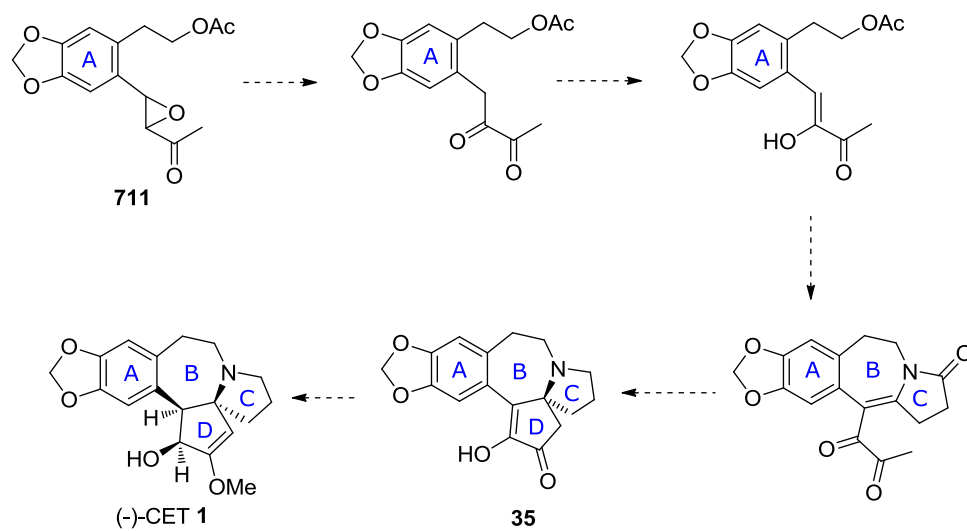


Schéma 163

C. PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. Généralités

1) Techniques expérimentales:

Les chromatographies sur couche mince (CCM) sont réalisées sur des plaques Merck Kieselgel 60 F₂₃₅ de 0,25 mm d'épaisseur. Les révélations sont faites par éclairage ultraviolet à 254 nm, puis par chauffage à 100 °C après traitement par une solution d'acide phosphomolybdique. Les chromatographies sur colonne sont effectuées sur gel de silice Merck 230-400 Mesh, selon la technique dite «Flash».

2) Spectroscopies et caractéristiques physiques:

Les spectres infrarouge ont été enregistrés par réflexion sur un spectromètre Bruker Vector 22 à transformée de Fourier (référence: polystyrène). Les spectres RMN du proton et du carbone ont été enregistrés sur un spectromètre Bruker AC 300.

Les déplacements chimiques observés sont exprimés en ppm (partie par million) par rapport au tétraméthylsilane. La multiplicité des signaux en RMN du proton est indiquée de la manière suivante : RMN ¹H (solvant deutéré, fréquence) : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), m (multiplet ou massif).

3) Réactions sous irradiation micro-onde:

Les réactions sous micro-ondes sont effectuées avec un appareil CEM Discover permettant un contrôle de la température, de la puissance d'irradiation et de la pression (jusqu'à 20 bar) dans des tubes en verre pyrex à paroi épaisse hermétiquement bouchés (capsule en aluminium et rondelle en téflon caoutchouté).

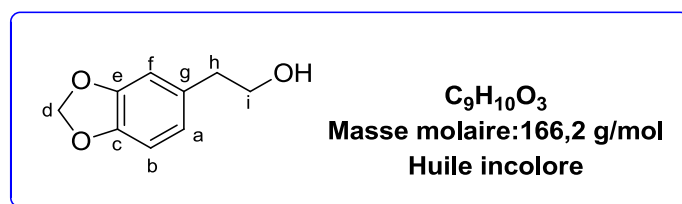
II. Description des modes opératoires et des produits

1) 2-[(3',4'-Méthylènedioxy)phényl]éthanol 664³⁴²

Dans un tricol de 2 L muni d'une canne frittée et d'une garde à chlorure de calcium, du safril **547** (50 g, 308 mmol) est dilué dans du dichlorométhane (1,5 L) et de l'éthanol (200 mL). Un courant d'ozone est établi (débit : 130 L/h; 3% O₃/O₂) pendant 3 h à -78°C. Lorsque l'analyse par CCM montre la consommation totale du substrat, l'excès d'ozone est chassé par un courant d'oxygène pendant 5 minutes puis du borohydrure de sodium (59 g, 1,54 mmol, 5 équiv) est ajouté par portions à -78 °C sous vive agitation. Après retour graduel à température ambiante (le bain froid est laissé en place), le mélange est laissé sous agitation pendant 3 jours jusqu'à ce qu'un test à l'iodure de potassium révèle la disparition des peroxydes. L'excès de NaBH₄

est alors détruit par ajout goutte à goutte de 350 mL d'une solution aqueuse d' H_2SO_4 à 10% contenue dans une ampoule à addition, jusqu'à pH 3-4 (attention au dégagement gazeux important). Sont alors ajoutés 600 mL d'eau pour solubiliser les sels et les phases sont séparées. La phase aqueuse est extraite par du dichlorométhane (4 x 250 mL). Les phases organiques sont rassemblées, séchées sur MgSO_4 , filtrées et concentrées sous pression réduite. L'huile obtenue est distillée sous vide ($T = 98\text{ }^\circ\text{C}$; $P = 0,01\text{ mmHg}$) pour donner 42 g d'alcool **664**, sous la forme d'une huile incolore (Rdt 80%).

2-[(3',4'-Méthylènedioxy)phényl]éthanol



$\text{Eb}_{0,01} = 98\text{ }^\circ\text{C}$.

IR (film, cm^{-1}) : 3341, 2882, 1502, 1487.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,71 (s, 1H, OH); 2,77 (t, $J = 6,5\text{ Hz}$, 2H h); 3,79 (t, $J = 6,5\text{ Hz}$, 2H i); 5,91 (s, 2H d); 6,64-6,77 (m, 3H f+a+b).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 38,3 (CH_2 h); 63,0 (CH_2 i); 100,3 (CH_2 d); 107,7 (CH e); 108,9 (CH b); 121,3 (CH a); 132,1 (C g); 145,5 (C c); 147,2 (C e).

2) 2-(6-Iodobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-éthanol 663b

a) Avec de l'iode en présence de $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{Ag}$

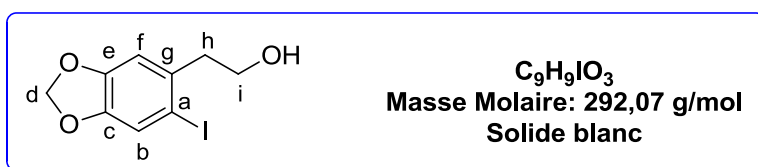
Dans un monocol de 100 mL, contenant 0,702 g d'alcool **664** (4,06 mmol) sont ajoutés 0,986 g de trifluoroacétate d'argent (44 mmol, soit 1,1 équiv), ainsi que 1,262 g d'iode (48 mmol, soit 1,2 équiv) et 10 mL de dichlorométhane. Le tout est agité sous azote pendant 6 h, en protégeant la réaction de la lumière (papier aluminium), car les dérivés iodés sont photosensibles. La phase organique est alors lavée par une solution de sulfite de sodium 10%, puis séchée sur sulfate de magnésium, filtrée sur célite et concentrée au rotavapor ainsi qu'à la pompe à vide. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane : 30/70), on obtient 1,094 g d'alcool iodé **663b** sous forme d'un solide blanc (Rdt 93%) et 43 mg d'alcool de départ **664** sous forme d'une huile incolore (Rdt 3%) et 48 mg de dimère iodé **665** sous forme d'une solide blanc (Rdt 4%).

b) Avec de l'iode et de l'acide iodique

Dans un ballon monocol de 100 mL, 0,83 g d'alcool **664** (5 mmol) sont mis en solution avec 40 mL de MeOH puis 0,508 g d'iode (2 mmol, soit 0,4 équiv) sont ajoutés, ainsi que 0,185 g d'acide iodique (1,05 mmol soit 0,21 équiv) dissout dans 10 mL d'eau. Le tout est porté au reflux durant 48 h, en faisant bien attention de protéger la réaction de la lumière, car l'acide iodique y est sensible.

Le méthanol est évaporé puis 35 mL de dichlorométhane sont ajoutés à la phase aqueuse. La phase organique est alors lavée à l'aide d'une solution de sulfite de sodium à 10%, d'eau et de saumure, puis séchée sur du sulfate de sodium, filtrée sur célite et concentrée au rotavapor ainsi qu'à la pompe à vide. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane: 20/80 puis 30/70). On obtient 958 mg d'alcool iodé **663b** sous forme d'un solide blanc (Rdt 66%, rendement corrigé 94%) et 248 mg d'alcool non iodé **664** (Rdt 30%).

2-(6-Iodobenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-éthanol **663b**



F = 76 °C

MHR : m/z **calculé pour $C_9H_9IO_3 [M]^+$** 291,9596

expérimental $[M]^+$ 291,9600

Analyse élémentaire: **Calculé** C 37,01; H 3,11

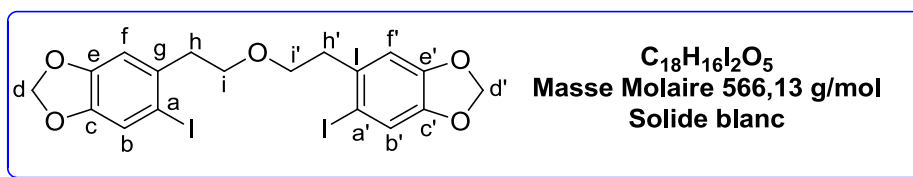
Expérimental C, 37,26; H, 3,23

IR (film, cm^{-1}) : 3402, 2889, 1500, 1471, 1405, 1385, 1229, 1180, 852.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1,78 (s, 1H OH); 2,79 (t, J = 6,8 Hz, 2H h); 3,66 (t, J = 6,8 Hz, 2H i); 5,80 (s, 2H d); 6,65 (s, 1H f); 7,10 (s, 1H b).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 43,4 (CH_2 h); 62,3 (CH_2 i); 88,6 (C a); 101,5 (CH_2 d); 110,0 (CH f); 118,6 (CH b); 134,3 (C g); 147,1 (C e); 148,4 (C c).

6,6'-(2,2'-Oxybis(éthane-2,1-diyl))bis(5-iodobenzo[d][1,3]dioxole) **665**



F = 66 °C

Analyse élémentaire: **Calculé** C 38,19; H 2,85

Expérimental C 33,37; H 2,72

MHR: masse exacte calculée 565,9087

non détecté (idem pour [M+H]⁺ et [M+Na]⁺)

IR (film, cm⁻¹): 2926, 1783, 1504, 1475, 1348, 1228, 1217, 1136, 1039, 979, 862, 806.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,10 (t, J = 6,94 Hz 4H h+h'); 4,48 (t, J = 6,94 Hz 4H i+i'); 5,95 (s, 4H d+d'); 6,74 (s, 2H f+f'); 7,23 (s, 2H b+b').

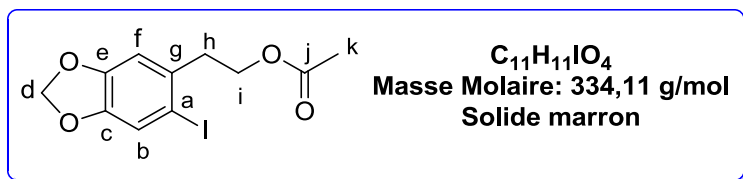
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 38,8 (2 CH₂ h+h'); 66,3 (2 CH₂ i+i'); 87,3 (2 C a+a'); 101,2 (2 CH₂ d+d'); 109,4 (2 CH f+f'); 118,2 (2 CH b+b'); 13,4 (2 C I+I'); 147,1 (2 C g+g'); 147,1 (2 C c+c').

3) Acétate de 2-(6-iodo-benzo[1,3]dioxol-5-yl)-éthyle 667

a) Iodation avec de l'iode et l'acide périodique dans l'acide acétique aqueux

Dans un monocol de 100 mL, contenant 0,83 g d'alcool **664** (5 mmol) mis en solution dans 5 mL d'acide acétique, 1 mL d'eau et 0,15 mL d'acide sulfurique concentré sont ajoutés 0,634 g d'iode (2,5 mmol, soit 0,5 équiv), ainsi que 0,24 g d'acide périodique (1,05 mmol, soit 0,21 équiv). Le tout est porté au reflux durant 48 h, en protégeant la réaction de la lumière, car l'acide périodique y est sensible. La phase aqueuse est extraite par 50 mL de dichlorométhane. La phase organique est alors lavée par une solution de sulfite de sodium 10%, puis 15 ml d'eau et de la saumure puis séchée sur sulfate de magnésium, filtrée sur célite et concentrée au rotavapor ainsi qu'à la pompe à vide. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane: 20/80). On obtient 1,459 g d'acétate iodé **667** sous forme d'un solide marron (Rdt 92%) et 100 mg de dimère non iodé **669** sous forme d'une huile marron (Rdt 8%).

Acétate de 2-(6-iodo-benzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyle **667**



F = 60°C

MHR : *m/z* calculé pour **C₁₁H₁₁IO₄ Na [M+Na]⁺** 356,9600

expérimental [M+Na]⁺ 356,9594

Analyse élémentaire: **Calculé** C 38,54; H 3,32

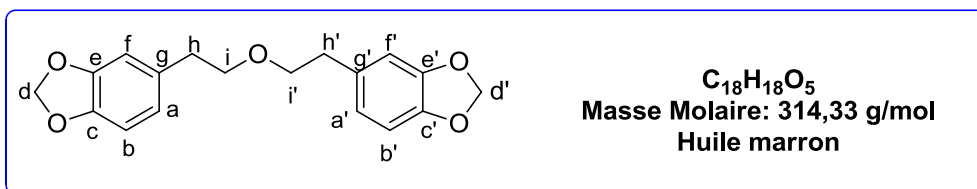
Expérimental C 43,63; H 3,62

IR (film, cm⁻¹): 2900, 1733, 1501, 1474, 1223, 1111, 1030, 860, 773.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,99 (s, 3H k); 2,94 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H h); 4,15 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H i); 5,87 (s, 2H d); 6,69 (s, 1H f); 7,17 (s, 1H b).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20,9 (CH₃ k); 39,5 (CH₂ h); 63,6 (CH₂ i); 87,9 (C a); 101,6 (CH₂ d); 109,8 (CH f); 118,5 (CH b); 133,6 (C g); 147,2 (C e); 148,4 (C c); 170,7 (C j).

5,5'-(2,2'-Oxybis(éthane-2,1-diyl))dibenzo[d][1,3]dioxole **669**



IR (film, cm⁻¹): 2958, 1734, 1653, 1504, 1444, 1246, 1033, 903.

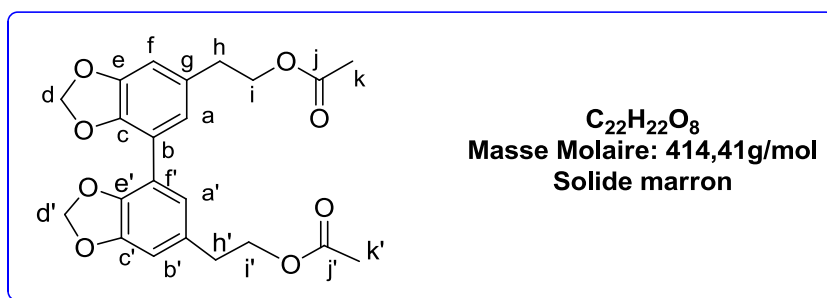
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,74 (t, *J* = 7 Hz 4H h+h'); 4,09 (t, *J* = 7 Hz 4H i+i'); 5,82 (s, 4H d+d'); 6,53 – 6,65 (m, 6H a+a'+f+f'+b+b').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 33,7 (2 CH₂ h+h'); 64,0 (2 CH₂ i+i'); 99,8 (2 CH₂ d+d'); 120,7 (2 CH a+a'); 107,2 (2 CH f+f'); 108,8 (2 CH b+b'); 130,4 (2 C l+l'); 145,1 (2 C e+e'); 146,6 (2 C c+c').

4) Acétate de 2-[6'-(2-acétoxy-éthyl)-[5,5'] ou [4,4']bi[benzo[1,3]dioxolyl]-6-yl]-éthyle 670 et 671

b) Iodation avec de l'iode, de l'acide périodique dans l'acide acétique glacial

Acétate de 2-[6'-(2-acétoxy-éthyl)-[5,5'bi[benzo[1,3]dioxolyl]-6-yl]-éthyle **670**Acétate de 2-[6'-(2-acétoxy-éthyl)-[4,4'bi[benzo[1,3]dioxolyl]-6-yl]-éthyle **671**



F = 107 °C

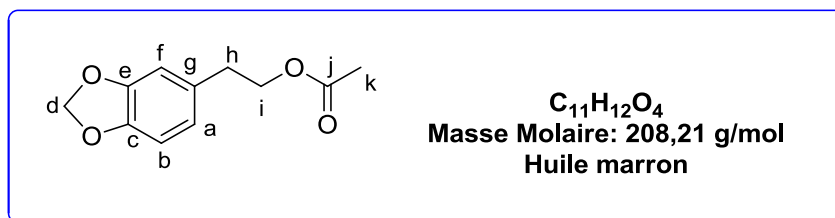
Analyse élémentaire:	Calculé	C 63,76; H 5,35
	Expérimental	C 61,61; H 5,50

IR (film, cm⁻¹): 2899, 1733, 1503, 1475, 1225, 1033.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,08 (s, 3H k+k'); 2,99 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H h+h'); 4,18 (t, *J* = 6,1 Hz, 2H i+i'); 5,89 (s, 2H d+d'); 6,51 (s, 1H f+f'); 6,71 (s, 1H a+a').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20,9 (CH₃ k+k'); 31,6 (CH₂ h+h'); 64,1 (CH₂ i+i'); 101,3 (CH₂ d+d'); 110,3 (CH b+b'); 111,9 (CH f+f'); 126,9 (C a+a'); 132,3 (C g+g'); 147,1 (C e+e'); 147,4 (C c+c'); 170,9 (C j+j').

Acétate de 2-benzo[1,3]dioxol-5-yl-éthyle **668**



Analyse élémentaire:	Calculé	C 63,45; H 5,81
	Expérimental	C 61,61; H 5,63

IR (film, cm⁻¹): 2900, 1733, 1502, 1475, 1233, 1032, 931.


RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,00 (s, 3H k); 2,81 (t, *J* = 6,9Hz, 2H h); 4,19 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H i); 5,88 (s, 2H d); 6,61 – 6,72 (m, 3H a+b+f).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20,9 (CH₃ k); 34,7 (CH₂ h); 64,9 (CH₃ i); 100,8 (CH₂ d); 108,1 (CH f); 108,6 (CH b); 121,6 (CH a); 131,4 (C g); 146,1 (C c); 147,6 (C e); 170,6 (C j).

5) 5-Iodo-6-(2-iodoéthyl)benzo[d][1,3]dioxole 672

Sont introduits dans un tube en verre 100 mg d'alcool iodé **663b** (0,52 mmol), 1 mL de dichlorométhane, 140 mg d'iode (0,52 mmol, 1,2 équiv) et 137 mg de PPh₃ (1 équiv). Après

5-Iodo-6-(2-iodoéthyl)benzo[d][1,3]dioxole **672**



$C_9H_8I_2O_2$
Masse Molaire: 401,97 g/mol
Solide blanc

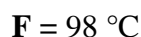


expérimental $[M]^+$ 401,8619

Expérimental C 27,09; H 2,03

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,13 – 3,32 (m, système A2B2 4H i+h); 5,96 (s, 2H d); 6,75 (s, 1H f); 7,22 (s, 1H b).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,80 (CH_2 i); 44,9 (CH_2 h); 87,6 (C a); 101,8 (CH_2 d); 109,7 (CH f); 118,9 (C b); 136,8 (C g); 147,6 (C c); 148,6 (C e).



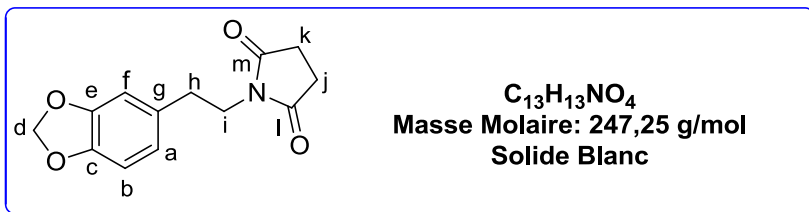
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3,20 (t, *J* = 7,6 Hz 2H h); 3,35 (t, *J* = 7,6 Hz 2H i); 5,85 (s, 2H d); 6,62 – 6,76 (m, 3H a+b+f).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 6,1 (CH_2 i); 39,9 (CH_2 h); 101,8 (CH_2 d); 108,2 (CH_2 f); 108,5 (CH b); 121,2 (C a); 134,4 (C g); 146,2 (C, c); 146,3 (C e).

6) 1-(2-(Benzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl)pyrrolidine-2,5-dione 674

Dans un bicol sec de 50 mL muni d'une ampoule à addition et d'un bulleur, du NaH (4,14 mg, 0,48 mmol, 4 équiv 60% dans l'huile minérale) est mis en suspension dans du THF (0,1 mL). Une solution de succinimide **559** (60 mg, 0,6 mmol, 5 équiv.) dans du DMF (0,15 mL) est additionnée à 0 °C. Le mélange est chauffé à 30 °C jusqu'à la fin du dégagement gazeux, puis une solution du dérivé mono-iodé **673** (50 mg, 0,12 mmol) dans du THF (0,05 mL) est ajoutée goutte à goutte. Après 20 heures d'agitation à 20 °C, de l'eau (3 mL) et de l'acétate d'éthyle (2,6 mL) sont ajoutés. Les phases sont alors décantées puis la phase aqueuse est extraite par de l'acétate d'éthyle (15 mL). Les phases organiques combinées sont lavées à l'eau (4 x 1 mL) puis séchées sur MgSO₄ et filtrées sur célite. La purification par flash chromatographie sur colonne de gel de silice avec un éluant acétate d'éthyle/cyclohexane (30/70) fournit 30 mg d'imide **674** sous la forme d'un solide blanc (Rdt 50%).

1-[2-(Benzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl]pyrrolidine-2,5-dione **674**



F = 135 °C

MHR : m/z calculé pour C₁₃H₁₄NO₄ [M+H]⁺ 248,0923

 expérimental [M+H]⁺ 248,0924

Analyse élémentaire: **Calculé** C 63,15; H 5,30; N 5,66

Expérimental C 63,15; H 5,33; N 5,60

IR (film, cm⁻¹): 2033, 1977, 1796, 1502, 1400, 1236, 1061,956.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,66 (s, 4H j+k); 2,79 (t, J = 7,5 Hz 2H h); 3,71 (t, J = 7,5 Hz 2H i); 5,92 (s, 2H d); 6,62-6,74 (m, 3H f+a+b).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 28,1 (2 CH₂ j+k); 38,1 (CH₂, h); 40,1 (CH₂, i); 100,9 (C, d); 108,6 (CH₂, b); 109,6 (CH, f); 109,6 (CH, a); 118,7 (C, g); 131,4 (C, c); 134,1 (C, e); 176,9 (2 C, l+m).

7) 1-(2-(6-Iodobenzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl)-pyrrolidine-2,5-dione 555b

a) Par substitution nucléophile du di-iodé **672**

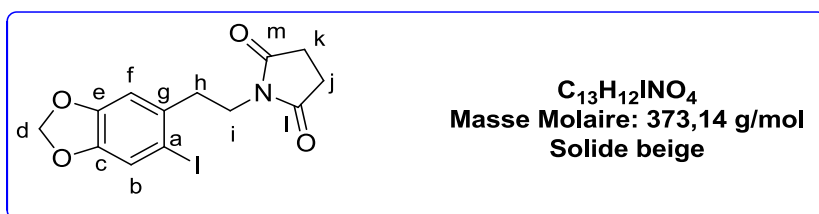
Dans un tube en verre de micro-ondes, sont ajoutés successivement 50 mg de di-iodé **672** (0,124 mmol), 1 mL de DMF, (345 mg, 2 équiv) de carbonate de potassium et (250 mg, 2 équiv) de succinimide **559**. Après chauffage micro-ondes pendant 30 min à 200 °C (20 W), ajoute 20 mL d'acétate d'éthyle, la phase organique est filtrée sur célite. Le filtrat est lavé par H₂O (3 x 5 mL), séché sur sulfate de magnésium puis concentré sous vide partiel au rotavapor. Le succinimide iodé **555b** est isolé par flash chromatographie sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/dichlorométhane 70/30 puis 60/40 conduisant à 30 mg de produit sous forme d'un solide jaune pâle (Rdt 35%).

b) Par iodation aromatique

b.1) Dans un monocol de 50 mL contenant 0,300 g de dérivé imide **674** (1,21 mmol) mis en solution dans 1 mL d'acide acétique avec 0,25 mL d'eau et 0,36 mL d'acide sulfurique concentré, sont ajoutés 0,124 g d'iode (0,48 mmol, soit 0,4 équiv), ainsi que 57 mg d'acide périodique (0,25 mmol, soit 0,21 équiv). Le tout est agité à température ambiante durant 72 h, en protégeant la réaction de la lumière. La phase aqueuse est extraite par 30 mL de dichlorométhane. La phase organique est alors lavée par une solution de sulfite de sodium à 10%, puis 15 ml d'eau et de la saumure puis séchée sur sulfate de magnésium, filtrée sur célite et concentrée au rotavapor ainsi qu'à la pompe à vide. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane: 20/80), 200 mg de succinimide iodé **555b** est isolé sous forme d'une solide jaune (Rdt 70%).

b.2) Dans un ballon de 50 mL, 300 mg de dérivé **674** (1,2 mmol) est mis en solution dans 8 mL de dichlorométhane, sous agitation, 365 mg d'iode (1,44 mmol, 1,2 équiv) et 0,29 g de trifluoroacétate d'argent (1,32 mmol, 1,1 équiv) sont ajoutés. Le mélange est agité pendant 6 h à température ambiante, en protégeant la réaction de la lumière. L'iode en excès est réduit avec une solution de thiosulfate de sodium saturée (5 mL). La phase organique est extraite avec du dichlorométhane (2 x 20 mL) puis lavée par du bicarbonate de sodium saturé (5 mL), ensuite séchée sur sulfate de magnésium, filtrée sur célite et concentrée au rotavapor et à la pompe à vide. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane : 20/80, 30/70 et 40/60). On obtient 130 mg du produit **555b** sous forme d'un solide beige (Rdt 92%)

1-(2-(6-Iodobenzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl)pyrrolidine-2,5-dione **555b**



F = 198 – 200 °C

MHR : m/z calculé pour $C_{13}H_{13}INO_4$ $[M+H]^+$ 373,9889

expérimental $[M+H]^+$ 373,9885

IR (film, cm^{-1}): 2988, 1698, 1503, 1475, 1400, 1227, 1145, 1031.

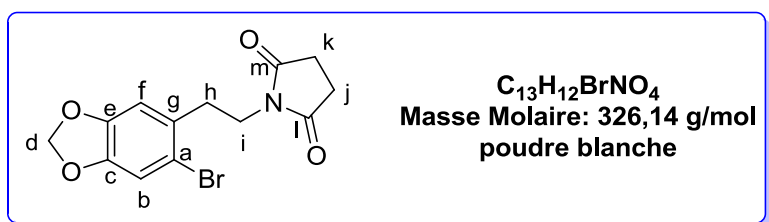
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 2,76 (s, 4H j+k); 2,93 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H h); 3,71 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H i); 5,94 (s, 2H d); 6,74 (s, 1H f); 7,19 (s, 1H b).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 27,8 (2 CH_2 j+k); 37,1 (CH_2 h); 38,5 (CH_2 i); 87,4 (C a); 101,3 (CH_2 d); 109,3 (CH b); 118,4 (CH, f); 133,9 (C g); 147,0 (C c); 148,3 (C e); 176,6 (2 C l+m).

8) 1-(2-(6-Bromobenzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl)pyrrolidine-2,5-dione 555a

La manipulation se fait sous azote, en condition anhydre. Dans un ballon sec de 25 mL, 290 mg d'imide **559** (2,5 mmol, 1 equiv), 741 mg d'alcool bromé **663a** (3 mmol, 1,2 equiv), 983 mg de triphénylphosphine (375 mmol, 1,5 equiv) sont dissous dans 15 mL de THF sec et le milieu est agité vigoureusement jusqu'à dissolution complète, puis purgé le milieu réactionnel à l'azote pendant 5 minutes, ajouté par une seringue 0,68 mL de DEAD (375 mmol, 1,5 equiv), ce qui provoque un fort échauffement, l'agitation est poursuivie pendant 17 heures à 20 °C. Le milieu réactionnel est concentré sous vide partiel et le résidu est chromatographié sur silice (Acétate d'éthyle/Cyclohexane: 20/80). Le produit attendu **555a** obtient 490 mg d'une poudre blanche (Rdt 58%).

1-(2-(6-Bromobenzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl)pyrrolidine-2,5-dione 555a



F = 115-116 °C

Analyse élémentaire: Calculé C 47,87; H 3,71 ; N 4,29

Expérimental C 45,81; H 3,48; N 3,98

IR (film, cm^{-1}): 2924, 2285, 1747, 1502, 1476, 1236, 1061.

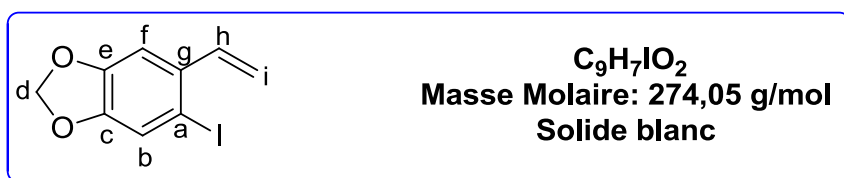
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 2,70 (s, 2H j+k); 2,96 (t, $J = 7,0$ Hz 2H h); 4,7 (t, $J = 7,0$ Hz 2H i); 5,92 (s, 2H d); 6,70 (s, 1H f); 6,70 (s, 1H b).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28,6 (2 CH_2 j+k); 32,5 (CH_2 h); 38,6 (CH_2 i); 101,7 (C d); 110,2 (CH_2 f); 112,7 (CH a); 114,5 (CH b); 130,4 (C g); 147,3 (C c); 147,4 (C e); 176,9 (2 C l+m).

9) 5-Iodo-6-vinylbenzo[d][1,3]dioxole 675

Dans un tube en verre introduit 100 mg de di-iodé **672** (0,248 mmol), 1 mL de diméthylformamide et 687 mg, (2 équiv) de carbonate de potassium. Après chauffage micro-ondes pendant 30 min à 200 °C (20 W), 25 mL d'acétate d'éthyle est ajouté. La phase organique est filtrée sur célite. Le filtrat est lavé par H_2O (3 x 5 mL), séché sur sulfate de magnésium puis concentré sous vide partiel au rotavapor. Le produit **675** est obtenu par flash chromatographie sur colonne de gel de silice (cyclohexane/diclorométhane 90/10), pour donner 20 mg de styrénique **675** sous forme d'un solide blanc (rdt 11%).

5-Iodo-6-vinylbenzo[d][1,3]dioxole **675**



F = 65°C

MHR : m/z	calculé pour $\text{C}_9\text{H}_8\text{IO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$	274,9569
	expérimental $[\text{M}+\text{H}]^+$	274,9571

IR (film, cm^{-1}): 2926, 2857, 1713, 1504, 1483, 1256, 1037, 857.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5,14 (dd, $J = 10,86$ Hz 2H i); 5,43 (dd, $J = 17$ Hz, 2H i); 5,89 (s, 2H d); 6,80 (m, 1H h); 6,95 (s, 1H f); 7,18 (s, 1H b).

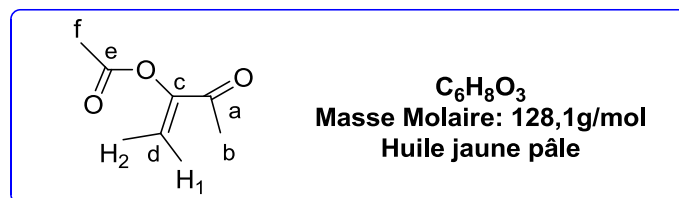
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 90,1 (C a); 101,8 (CH_2 d); 106,0 (CH f); 115,3 (CH_2 i); 118,6 (CH b); 134,6 (C g); 140,0 (CH h); 147,8 (C e); 150,1 (C c).

10) 3- Acétoxybut-3-én-2-one 618

La manipulation se fait sous azote, sous hotte, en condition anhydre et avec des gants (odeur très prenante). Dans un ballon monocol de 1L, sont placés 17,5 mL (0,2 mol) de 2,3-butanedione **557** et 28 mL de triéthylamine (0,2 mol, 1 équiv) dans 200 mL de CH_2Cl_2 , sous agitation à 0 °C, est additionné lentement. Via une ampoule de coulée graduée de 250 mL, 14,2 mL de chlorure d'acétyle (0,2 mol, 1 équiv) dilué dans 50 mL de CH_2Cl_2 . La température du mélange est portée à 20 °C sous agitation pendant une nuit. On ajoute 200 mL de pentane

ce qui provoque la précipitation du chlorhydrate de triéthylamine. Après filtration sur célite, le milieu est concentré et distillé sous pression réduite, (température de bain: 150 °C) pour récupérer 4,36 g d'énone **618** (température de distillation: 80 °C) (Rdt 37%). On ne fait pas de spectre IR à cause de l'odeur très prenante.

3- Acétoxybut-3-én-2-one **618**



Eb = 80 °C

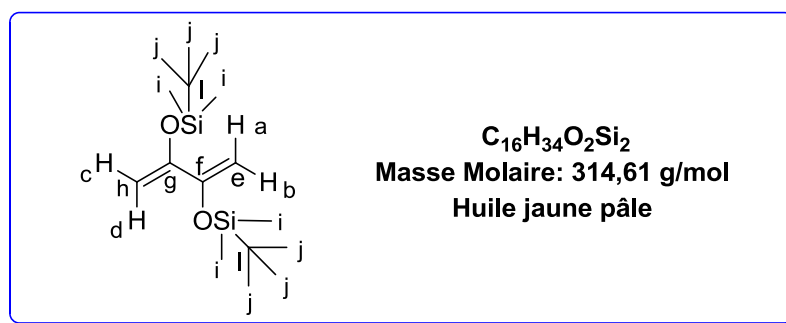
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,09 (s, 3H f); 2,23 (s, 3H b); 5,50 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H d1); 5,82 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H d2).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 191,6 (C a); 168,5 (C e); 151,3 (C c); 113,8 (CH d); 25,0 (CH₃ b); 20,0 (CH₃ f).

11) 2,2,3,3,8,8,9,9-Octaméthyl-5,6-diméthylène 4,7-dioxa-3,8-disiladécane 682

Dans une solution de 5 ml de CH₂Cl₂ contenant 0,5 ml de 2,3 butanedione **557** (5,80 mmol) sont introduits 2,35 mL (3 éq.) de triéthylamine puis 1,1 mL (1 éq.) de trifluorométhanesulfonate de *tert*-butyldiméthylsilyle, sous atmosphère sèche et inerte (argon). Le milieu réactionnel est laissé sous agitation à température ambiante pendant 3 h, puis il est dilué dans un volume de pentane (15 mL) à 0 °C auquel est ajoutée une solution de bicarbonate de sodium à 5% (5 mL) à 0 °C avec une brève agitation (30 sec). Les deux phases sont séparées et la phase organique est extraite à par 20 mL d'éther puis séchée par sulfate de sodium et filtrée sur célite, concentrée sous vide partiel au rotavapor. On obtient 751 mg de di-éther d'énol **682** sous forme d'une huile jaune pâle (Rdt 42%). Avec 2,5 equiv de TBDMSOTf, le rendement est de 29%.

2,2,3,3,8,8,9,9-Octaméthyl-5,6-diméthylène 4,7-dioxa-3,8-disiladécane **682**



IR (film, cm⁻¹): 2929, 2857, 1590, 1473, 1364, 1258, 1194, 1001, 824, 778.

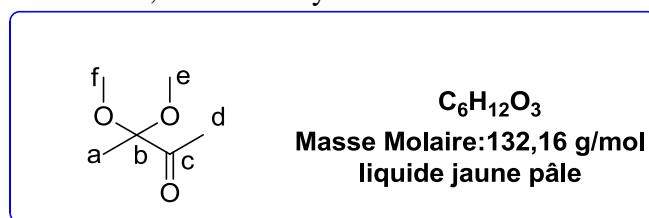
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,88 (s, 12 H i); 0,97 (s, 18 H j); 4,32 (s, 2H a+d); 4,58 (s, 2H c+b).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0,7 (4 CH₃ i); 18,1 (2 C l); 25,7 (6 CH₃ j); 92,2 (2 CH₂ h+e); 153,1 (2 C g+f).

12) 3,3-Diméthoxy-2-butanone 678

Dans un ballon de 100 mL, 17,2 g de butane-2,3-dione **557** (0,2 mol) sont mélangés avec 21,2 g (0,2 mol) de triméthylorthoformiate et 0,04 mL d'acide sulfurique concentré. Le mélange est porté à reflux à 100 °C pendant 5 heures. Après retour à la température ambiante, le mélange est neutralisé par addition lente de 20 mL d'une solution de bicarbonate de sodium 10%, extrait avec du chloroforme (20 mL x 3) et les phases organiques combinées sont séchées sur sulfate de magnésium, filtrées sur célite puis concentrées sous vide. Un brut pesant 19,08 g est obtenu sous forme d'un liquide jaune pâle consistué de la 3,3-diméthoxy-2-butanone **678** avec un rendement de 72%.

3,3-Diméthoxy-2-butanone **678**



IR (film, cm⁻¹): 1719, 1381, 1355, 1098, 947.

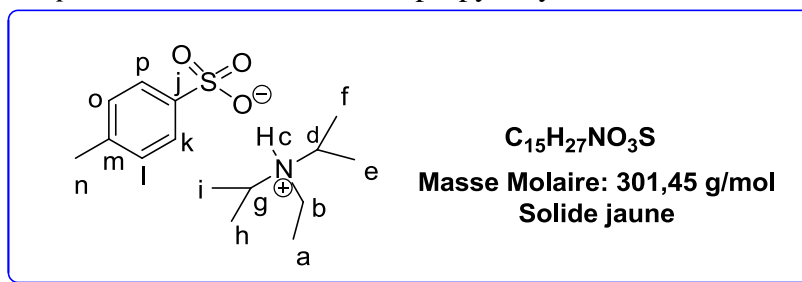
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,38 (s, 3H a); 2,24 (s, 3H d); 3,26 (s, 6H e+ f).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 19,2 (CH₃ a); 25,5 (CH₃ d); 49,3 (2 CH₃ e+f); 102,1 (C b); 206,9 (C c).

13) *p*-Toluènesulfonate de diisopropyléthylammonium 681

Dans un ballon de 50 mL, 3,8 g d'acide *p*-toluène sulfonique monohydraté **679** (20 mmol) dans 10 mL de méthanol sont mélangés avec 2,8 g de diisopropyléthylamine (20 mmol) sous argon. La solution résultante est concentrée sous vide au rotavapor et à la pompe pour donner une huile qu'on laisse sécher et cristalliser. Le solide obtenu est ensuite écrasé et mis sous le vide de la pompe pour donner 6 g de produit attendu **681** sous forme d'un solide jaune (Rdt 100%).

p-Toluènesulfonate de diisopropyléthylammonium **681**



IR (film, cm⁻¹): 2988, 1395, 1170, 1120, 1033, 1010, 816, 680.

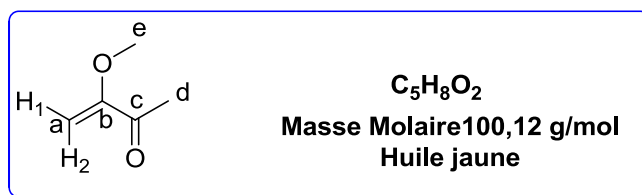
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,34 (dt, *J* = 6,6, 5,0 Hz 15H a+e+f+h+i); 2,29 (s, 3H n); 2,97 – 3,06 (m, 2H b); 3,52 – 3,62 (m, 2H d+g); 7,10 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H l+o); 7,70 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H k+p); 9,26 (s, 1H c).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 12,21 (CH₃ a); 17,0 (2 CH₃ e+f ou h+i); 18,4 (2 CH₃ h+i ou e+f); 21,1 (CH₃ n); 42,4 (CH₂ b); 125,7 (2 CH d+g); 128,4 (4 CH k+l+o+p); 139,3 (C m); 143,0 (C j).

14) 3-Méthoxy-3-buten-2-one 677

Dans un ballon de 25 mL, 9 g de 3,3-diméthoxy-2-butanone **678** (68 mmol) et 0,26 g de diisopropyléthylammonium tosylate (0,86 mmol) sont chauffés à 165 °C (température du bain d'huile) pour donner un liquide jaune qui distille à 65 °C. Le distillat recueilli contient 2,16 g de 3-méthoxy-3-buten-2-one **677** (21,5 mmol), 2,85 g de 3,3-diméthoxy-2-butanone **678** qui n'a pas réagi (21,5 mmol) et du méthanol avec un rendement de 32%.

3-Méthoxy-3-buten-2-one **677**



IR (film, cm⁻¹): 2981, 1732, 1610, 1372, 1305, 1156, 1043, 906, 886, 731.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,1 (s, 3H d); 3,11 (s, 3H e); 4,47 (d, *J* = 2 Hz 1H a); 5,07 (d, *J* = 2 Hz 1H b).

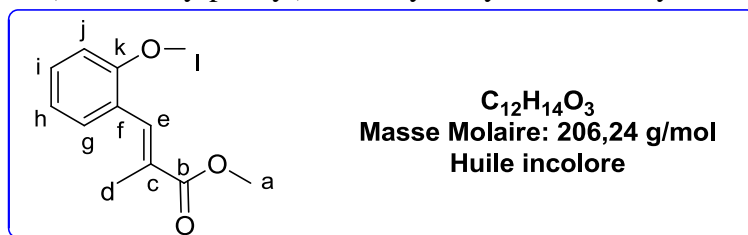
RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 23,1 (CH₃ d); 55,1 (CH₃ e); 91,4 (CH₂ a); 158,2 (C b); 196,3 (C c).

15) 3-(2-Méthoxy-phényl)-2-méthyl-acrylate de méthyle 642

Mode opératoire général A: réaction de Heck avec le méthylacrylate de méthyle en présence de *N*-méthyldicyclohexylamine [ou d'acétate de sodium] dans le toluène [ou dans l'eau]

Dans un tube en verre introduit 0,1 mL de 2-iodoanisole **626** (0,77 mmol), 1,30 mL de *N*-méthyldicyclohexylamine (1,203 g, 6,16 mmol soit 8 équiv) [ou 190 mg d'acétate de sodium (6,16 mmol soit 8 équiv)], 0,164 mL de méthacrylate de méthyle **641** (1,54 mmol soit 2 équiv), 8,64 mg, de Pd(OAc)₂ (5 mol %) [ou 6,73 mg, de PdCl₂ (5 mol %)] et 10 mg de PPh₃ (5 mol %) [ou (21,06 mg de dppf (5 mol %))]. Le tout est dissout dans 0,8 mL de toluène [ou d'eau]. Après chauffage micro-ondes pendant 20 min à 150 °C (60 W), sont ajoutés 30 mL d'éther pour faire précipiter les sels de palladium puis la phase organique est filtrée sur célite. Le filtrat est lavé par une solution aqueuse de HCl 10% (3 x 5 mL) puis amenée à pH neutre par une solution saturée de NaHCO₃ (5 mL) et traitée par de la saumure (5 mL), séchée sur sulfate de sodium puis concentrée sous vide partiel au rotavapor. Le produit attendu **642** est isolé par flash chromatographie sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 98/2 puis 95/5 (Rdt 91% dans le toluène et 85% dans l'eau).

3-(2-Méthoxy-phényl)-2-méthyl-acrylate de méthyle **642**



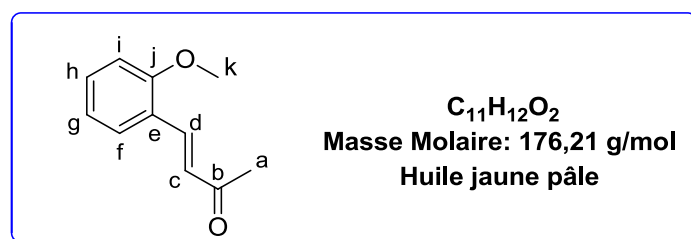
IR (film, cm⁻¹): 2935, 2837, 1628, 1599, 1584.

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 14,2 (CH_3 d); 51,9 (CH_3 a); 55,4 (CH_3 l); 110,4 (CH j); 120,0 (CH h); 124,7 (CH f); 127,7 (C c); 129,3 (CH g); 129,8 (CH i); 134,8 (CH e); 157,5 (C k); 169,0 (C b).

Mode opératoire général C : réaction de Heck avec la méthylvinylcétone en présence d'acétate de sodium dans le toluène

Selon le mode opératoire A avec 0,1 mL de 2-iodoanisole **626** (0,77 mmol), 190 mg d'acétate de sodium (6,16 mmol soit 8 équiv), avec 0,130 mL de méthyl vinyl cétone **616** (1,54 mmol soit 2 équiv), 8,64 mg (5 mol %) de Pd(OAc)₂ et 10 mg (5 mol %) de PPh₃. Le tout est dissout dans 0,8 mL de toluène et chauffé sous micro-ondes pendant 20 min à 150 °C (60 W). Après refroidissement, 30 mL de dichlorométhane sont ajoutés, pour faire précipiter les sels de palladium puis la phase organique est filtrée sur célite. Le produit de couplage **661** est isolé par flash chromatographie sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 98/2 puis 95/5, pour donner 67 mg de dérivé **661** sous forme d'une huile jaune pâle (Rdt 20%).

(E)-4-(2-Méthoxyphényl)-but-3-én-2-one 661



MHR : m/z calculé pour C₁₁H₁₃O₂ [M+H]⁺ 177,0916
 expérimental [M+H]⁺ 177,0911

IR (film, cm⁻¹): 2926, 2857, 1714, 1666, 1598, 1487, 1241, 1297, 1024, 751.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,30 (s, 3H a); 3,80 (s, 3H k); 6,64 (d, J = 16,5 Hz, 1H c); 7,02 (dd, J = 7,3 Hz 1H i); 7,09 (dt, J = 7,0 Hz, 1,66 Hz 1H g); 7,27 (dt, J = 7,0 Hz, 1,76 Hz, 1H h); 7,43 (dd, J = 7,3 Hz, 1,76 Hz 1H f); 7,77 (d, J = 16,5 Hz, 1H d).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 26,5 (CH₂ a); 55,5 (CH₃ k); 111,2 (CH i); 120,4 (CH g); 127,4 (C e); 128,3 (CH c); 129,9 (CH f); 131,8 (CH h); 138,8 (CH d); 158,3 (C j); 199,1 (C b).

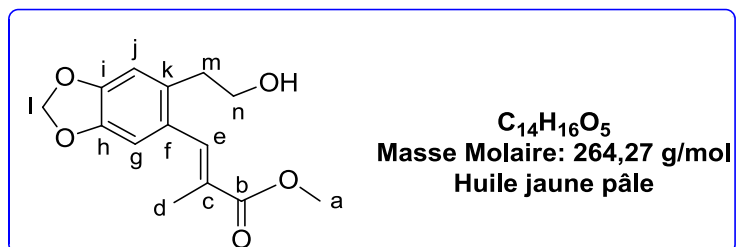
17) 3-[6-(2-Hydroxyéthyl)-benzo[1,3]dioxol-5-yl]-2-méthyl-acrylate de méthyle
683

Mode opératoire général C réaction de Heck avec les conditions de l'essai 2 (tableau 22, page 188) dans le toluène

Avec 425 mg d'alcool iodé **663b** (1 mmol), 1,7 mL de N-méthyl-dicyclohexylamine (8 équiv, 1,562 g soit 8 mmol), et 0,21 mL de méthacrylate de méthyle **641** (2 mmol soit 2

équivalent), 13,11 mg (5 mol %) de PdCl₂ et 8,86 mg (5 mol %) de PPh₃, dissout dans 0,8 mL de toluène. Le produit de couplage **683** est isolé par flash chromatographie sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 70/30, pour donner 67 mg de composé **683** sous forme d'huile jaune pâle (Rdt 60%).

Acrylate de 3-[6-(2-Hydroxyéthyl)-benzo[1,3]dioxol-5-yl]-2-méthyl-méthyle **683**



IR (film, cm⁻¹): 3469, 2952, 2930, 2880, 1707, 1607, 1631, 1615.

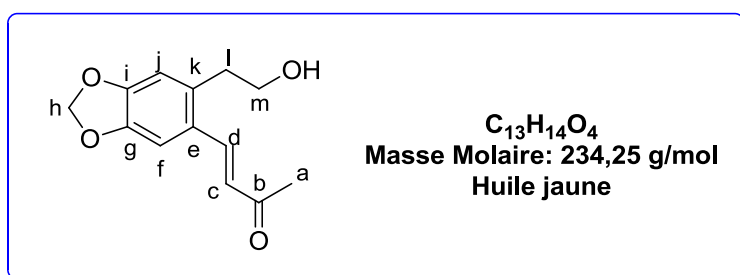
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,91 (s, 3H d); 2,53 (s, 1H OH); 2,75 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H m); 3,65 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H n); 3,75 (s, 3H a); 5,89 (s, 2H l); 6,66 (s, 1H g); 6,71 (s, 1H j); 7,68 (s, 1H e).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 13,8 (CH₃ d); 36,5 (CH₂ m); 51,9 (CH₃ a); 62,8 (CH₂ n); 101,0 (CH₂ l); 109,1 (CH₂ g); 110,4 (CH₂ j); 126,1 (C f); 128,6 (C c); 131,7 (CH k); 137,8 (CH e); 145,8 (C h); 146,5 (C i); 168,8 (C b).

18) 4-[2-(2-Hydroxy-éthyle)-4-méthoxy-phényl]-but-3-én-2-one 686b

Selon le mode opératoire général C, en utilisant 425 mg d'alcool iodé **663b** (1,45 mmol), 190 mg d'acétate de sodium (6,16 mmol, 8 équivalent), avec 0,15 mL de méthyl vinyl cétone **616** (2,9 mmol, 2 équivalent), 53 mg (10 mol %) de PdCl₂dppf. Le tout est dissout dans 0,8 mL d'eau. Après traitement et purification sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 70/30, 18 mg de produit de couplage de Heck **686b** est obtenu sous forme d'une huile jaune (Rdt 18%) avec 91 mg de produit de départ (alcool iodé) **663b** sous forme d'un solide blanc (Rdt 47%). (Rendement corrigé Rdt 14%).

4-[2-(2-Hydroxy-éthyle)-4-méthoxy-phényl]-but-3-én-2-one **686b**

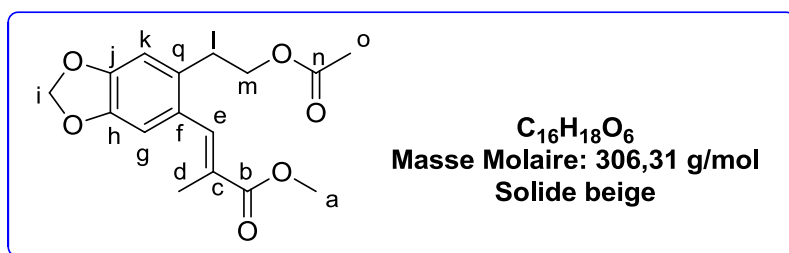


RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28,6 (CH_2 a); 33,9 (CH_2 l); 50,0 (CH_2 c); 63,1 (CH_2 m); 72,4 (CH d); 100,6 (CH_2 h); 108,5 (CH j); 109,6 (CH f); 126,8 (C k); 129,8 (C e); 146,2 (C i+g); 207,0 (C b).

20) Acrylate de 3-[6-(2-Acétoxy-éthyl)-benzo[1,3]dioxol-5-yl]-2-méthyl)-méthyle

Selon le mode opératoire général C, (les conditions de l'essai 4) en utilisant 0,47 g (1,40 mmol) d'acétate iodé **667** et 0,58 mL de *N*-méthyl-dicyclohexylamine 0,27 mL de méthacrylate de méthyle **641** (2,81 mmol, 2 équiv), 6,73 mg (5 mol %) de PdCl_2 et 21,06 mg (5 mol %) de dppf. Le tout est dissout dans 0,8 mL de toluène. Après traitement et purification sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20 puis 70/30, 21 mg de produit de couplage **686a** est obtenu (Rdt 18%) sous forme un solide beige avec 110 mg de produit de départ **667** (Rdt 70%). (Rendement corrigé Rdt 60%).

acrylate de 3-([6-(2-Acétoxy-éthyl)-benzo [1,3]dioxol-5-yl]-2-méthyl)méthyle **686a**



F= 128 °C

IR (film, cm^{-1}): 2896, 1734, 1503, 1478, 1227, 1113, 1032, 932, 730.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,90 (s, 3H d); 1,97 (s, 3H o); 2,79 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H l); 3,74 (s, 3H a); 4,15 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H m); 5,87 (s, 2H i); 6,56 (s, 1H, k); 6,67 (s, 1H g); 7,64 (s, 1H e).

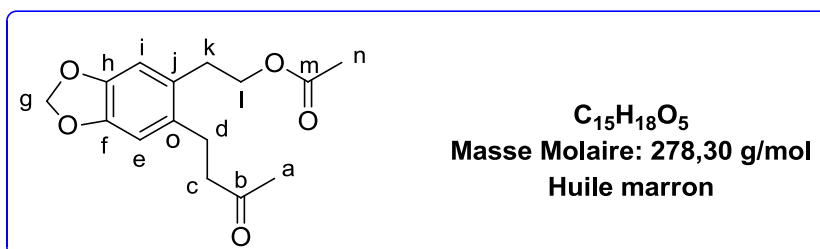
RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 13,9 (CH_3 d); 20,8 (CH_3 o); 31,8 (CH_2 l); 51,4 (CH_3 a); 65,1 (CH_2 m); 100,6 (CH_2 i); 110,4 (CH g); 118,5 (CH k); 126,0 (C f); 128,2 (C c); 131,4 (C q); 137,5 (CH e); 146,3 (C h); 147,3 (C j); 168,6 (C b); 170,7 (C n).

21) Acétate de 2-(6-(3-oxobut-1-enyl)benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-éthyle 687 et Acétate de 2-[6-(3-oxo-butyl)-benzo[1,3]dioxol-5-yl]-éthyle 692

Selon le mode opératoire général précédent A, (les conditions de l'essai 2) en utilisant 2,5 g d'acétate iodé **667** (6,13 mmol), 10,40 mL de *N*-méthyldicyclohexylamine (9,572 g, 49 mmol, 8 équiv), 1,32 mL de méthyl vinyl cétone **616** (12,27 mmol, 2 équiv), (54 mg, 5 mol %) de PdCl_2 et (80 mg, 5 mol %) PPh_3 . Le tout est dissout dans 6,1 mL de toluène. Après

chauffage micro-ondes pendant 20 min à 150 °C (60 W). Après traitement et purification sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20 puis 70/30, 976 mg de produit de couplage réducteur **692** est obtenu (Rdt 70%) sous forme d'un huile marron et 593 mg de produit de couplage attendu **687** sous forme d'un solide beige (Rdt 35%).

Acétate de 2-[6-(3-oxo-butyl)-benzo[1,3]dioxol-5-yl]éthyle **692**



F = 130 °C

MHR : m/z calculé pour C₁₅H₁₇O₅ [M-H]⁻ 277,1076

expérimental [M-H]⁻ 277,1079

Analyse élémentaire: Calculé C 64,74; H 6,52

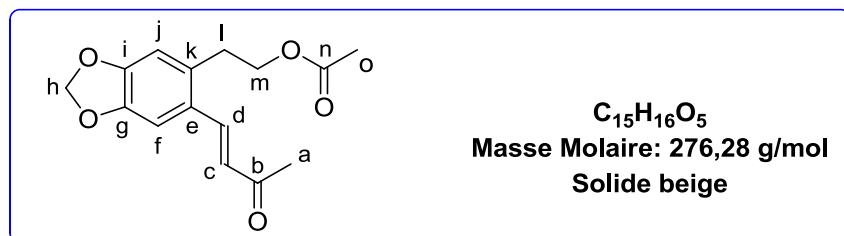
Expérimental C 64,70; H 6,42

IR (film, cm⁻¹): 2900, 1734, 1713, 1234, 1033, 933.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1,98 (s, 3H n); 2,03(s, 3H a); 2,58 (t, J = 7,0 Hz, 2H k); 2,67-2,76 (m, 4H c+d); 4,05 (t, J = 7,0 Hz, 2H l); 5,75 (s, 2H g); 6,53 (d, J = 4,5 Hz, 2H i+e).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20,4 (CH₃ o); 25,9 (CH₃ a); 31,3 (CH₂ d); 44,5 (CH₂ c); 64,3 (CH₂ K); 100,6 (CH₂ g); 108,9 (CH e); 109,5 (CH i); 128,0 (CH₂ C); 132,2 (C n+j); 139,8 (CH₂ d); 145,7 (C f); 146,1 (C h); 170,2 (C m); 207,1 (C b).4.

Acétate de 2-[6-(3-oxobut-1-ényl)benzo [1,3]dioxol-5-yl]-éthyl **687**



F = 130 °C

MHR : m/z calculé pour C₁₅H₁₇O₅ [M+H]⁺ 277,1077

expérimental [M+H]⁺ 277,1076

Analyse élémentaire: Calculé C 65,21; H 5,84

Expérimental C 65,55; H 6,33

IR (film, cm⁻¹): 2900, 1737, 1661, 1504, 1480, 1262, 1210, 1047, 729.

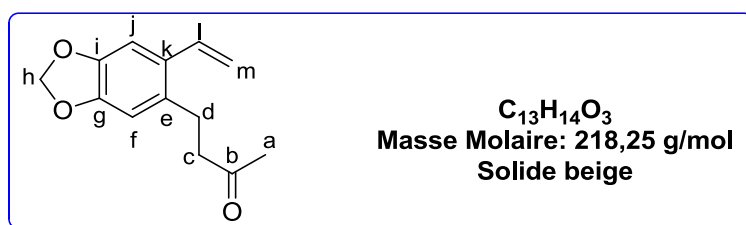
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,02 (s, 3H n); 2,39 (s, 3H a); 3,02 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H l); 4,16 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H m); 5,98 (s, 2H h); 6,48 (d, *J* = 16 Hz, 1H c); 6,66 (s, 1H j); 7,03 (s, 1H f); 7,77 (d, *J* = 16 Hz, 1H d).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 20,8 (CH₃ o); 27,6 (CH₃ a); 32,3(CH₂ l); 64,6 (CH₂ K); 101,5 (CH₂ g); 105,7 (CH e); 109,8 (CH i); 126,8 (CH₂ C); 132,9 (2 C n+j); 139,8 (CH₂ d); 147,2 (C f); 149,7 (C h); 170,9 (C m); 198,3 (C b).

23) 4-(6-vinylbenzo[1,3]dioxol-5-yl)butan-2-one 690

Selon le mode opératoire général C, (les conditions de l'essai 2) en utilisant 400 mg de di-iodé **672** (1 mmol), 1,7 mL de *N*-Méthyldicyclohexylamine (8 équiv, 1,56 g, 8 mmol), 0,16 mL de méthyl vinyl cétone **616** (2 mmol, 2 équiv), 8,8 mg (5 mol %) de PdCl₂ et 13 mg (5 mol %) de PPh₃. Le tout est dissout dans 1 mL de toluène. Après chauffage micro-ondes pendant 20 min à 150 °C (60 W). Après traitement et purification sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20, 50 mg d'un mélange de produits non séparé de couplage réducteur **690** avec le produit de Heck **691** ayant subis une élimination de l'iode est obtenu mais avec un faible rendement (Rdt 11%) sous forme d'un solide beige et 48 mg de produit de départ **672** (Rdt 10%).

4-(6-vinylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)butan-2-one **690**

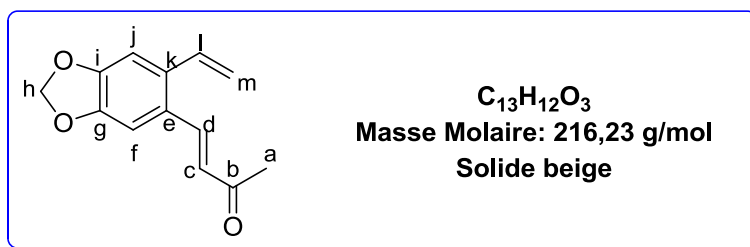


IR (film, cm⁻¹): 2926, 1712, 1503, 1483, 1359, 1244, 1163, 1036, 935, 871.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,12 (s, 3H a); 2,77 – 2,89 (m, 2H d+c); 5,20 (dd, *J* = 17 et 11 Hz, 1H m1); 5,52 (d, *J* = 11 Hz, 1H m2); 5,91 (s, 2H h); 6,63 (s, 2H f); 6,84 (dd, *J* = 17 et 11 Hz, 1H l); 6,97 (s, 1H j).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 26,9 (CH₂ d); 30,0 (CH₃ a); 44,8 (CH₂ c); 100,9 (CH₂ h); 105,5 (CH j); 108,7 (C e); 108,9 (C k); 109,4 (CH f); 114,0 (CH₂ m); 131,2 (C g); 132,3 (C i); 133,6 (CH l); 197,7 (C b).

(E)-4-(6-vinylbenzo[1,3]dioxol-5-yl)but-3-en-2-one **691**



IR (film, cm⁻¹): 2926, 1713, 1667, 1504, 1449, 1207, 1037.

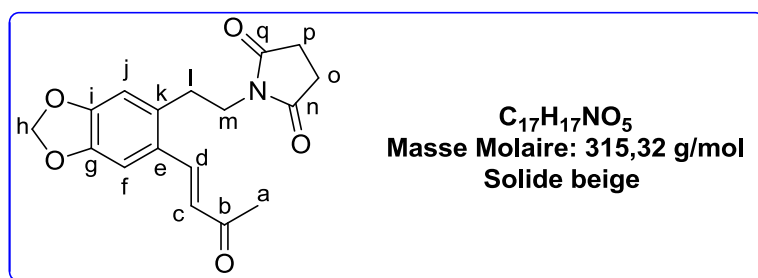
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2,35 (s, 3H a); 5,43(dd, *J* = 10,8 et 6,2 Hz 3H m); 5,81 (s, 2H h); 6,51 (d, *J* = 16 Hz, 1H c); 6,62 (s, 1H j); 6,80-6,89 (dd, *J* = 10,8 et 6,2 Hz, 2H l); 7,02 (s, 1H f); 7,84 (d, *J* = 16 Hz, 1H d).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 30,0 (CH₃ a); 100,9 (CH₂ h); 105,6 (CH j); 106,4 (C f); 109,4 (2 C e+k); 114,0 (CH₂ m); 124,2 (CH c); 126,9 (CH d); 133,6 (CH l); 167,5 (2 C g+i); 197,7 (C b).

4) 1-(2-(6-(3-Oxobut-1-én-1-yl)benzo[1,3]dioxol-5-yl)-éthyl)pyrrolidine-2,5-dione 621b

Selon le mode opératoire général C, la réaction est conduite avec 100 mg de succinimide iodé **555b** (0,267 mmol) et 0,06 mL de méthyle vinyle cétone **616** (0,535 mmol soit 2 éq.) 23 mg (5 mol %) de PdCl₂ et 30 mg (5 mol %) de PPh₃ dans 0,8 mL d'eau. Après traitement et purification sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20 puis 70/30, on obtient 95 mg de produit **621a** sous forme d'un solide beige (Rdt 14%).

(*E*)-1-(2-(6-(3-Oxobut-1-én-1-yl)benzo[1,3]dioxol-5-yl)éthyl)pyrrolidine-2,5-dione **621a**



MHR : *m/z* calculé pour C₁₇H₁₈NO₅ [M+H]⁺ 316,1185

expérimental [M+H]⁺ 316,1186

IR (film, cm⁻¹): 2932, 1704, 1484, 1259, 1035, 734.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,18 (s, 3H a); 2,61 (s, 4H o, p); 2,85 (t, $J = 7,6$ Hz 2H l); 3,56 (t, $J = 7,6$ Hz 2H m); 5,9 (s, 2H h); 6,4 (d, 1H c); 6,65 (s, 1H j); 6,98 (s, 1H, f); 7,76 (d, 1H, d).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 26,1 (2 CH_2 o+p); 30,4 (CH_2 l); 32,8 (CH_3 a); 39,8 (CH_2 m); 101,6 (CH_2 h); 109,6 (CH j); 110,4 (CH f); 127,1 (C c); 127,7 (C e); 132,1 (C k); 139,9 (C d); 146,3 (C i); 147,3 (C g); 176,8 (2 C n+q); 199,7 (C b).

24) 4-(3,4-Diméthoxy-phényl)-but-3-ène-2-one 617

- par couplage de Heck

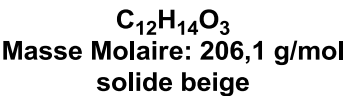
Dans un ballon de 100 mL, 0,51 g de bromovératrole **615** (1 équiv.), et 0,30 mL de méthyl vinyl cétone **616** (0,252 g, 2 équiv.) sont introduit avec 4 mL de triéthylamine (3,23 g, 32 mmol soit 8 équiv.), 0,35 g de triphénylphosphine (0,40 mmol soit 0,33 équiv), 0,08 g d'acétate de palladium (10% mol soit 0,40 mmol). Le milieu réactionnel est porté à 80 °C, sous azote et sous agitation durant 24 heures. Après le retour à 20 °C, on additionne 30 mL d'eau et on filtre le brut de réaction. L'extraction est alors réalisée par 3 x 30 mL d'éther. Ces phases organiques recueillies sont séchées sur sulfate de sodium, filtrées sur célite, puis évaporée. Après traitement et purification sur colonne, on obtient 0,753 g de composé **617** (Rdt = 91%), sous forme d'un solide beige.

En utilisant les mêmes conditions mais sous irradiations micro-ondes dans un tube fermé, le rendement est de 82%. On place 2,6 mL de bromovératrol **615** (18 mmol) et 3 mL de méthyl vinyl cétone **616** (36 mmol, 2 équiv, 5% mol de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$), dans un tube en verre sous micro-ondes. Après 30 min. à 160 W, on ajoute 5% mol de $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ et 1 équiv de méthylvinylcétone puis on irradie à nouveau 30 min. à 160 W. Le même traitement et la même purification sont effectués pour obtenir 2,31 g de produit **617** (Rdt = 62%).

- par aldolisation

Dans une solution de 16,6 g de 3,4-méthoxybenzaldéhyde (0,1 mol) dissout dans 1,4 L d'éther. Sont additionnés 36 mL d'acétone (29 g, 0,5 mol, 5 équiv), ainsi que 120 mL de NaOH 10% (12 g, 0,3 mol, 3 équiv). Après 2 h30 de réaction à 20°C, on extrait la phase aqueuse par 4 x 200 mL de CH_2Cl_2 . On lave les phases organiques réunies à la saumure, on sèche (MgSO_4), on filtre sur célite et on évapore. 14 g de **617** sont récupérés par recristallisation (AcOEt la première fois puis AcOEt /pentane : 1/1) et 5,3 g par chromatographie sur gel de silice (cyclohexane/ AcOEt : 85/15) (Rdt = 94%).

4-(3,4-Diméthoxy-phényl)-but-3-ène-2-one 617



Analyse élémentaire:	Calculé	C 69,88; H 6,84
	Expérimental	C 69.44; H 6,83

MHR : m/z	calculé pour $C_{12}H_{15}O_3$ $[M+H]^+$	207,1021
	expérimental $[M+H]^+$	207,1016

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) : 2,36 (s, 3H a); 3,83 (s, 3 H j); 3,84 (s, 3 H k); 6,60 (d, $J = 16$ Hz, 1 H c); 6,88 (d, $J = 8,3$ Hz, 1 H i); 7,8 (d, $J = 1,9$ Hz, 1H k); 7,13 (dd, $J = 8,3$ et 1,9 Hz, 1 H f); 7,46 (d, $J = 16$ Hz, 1 H d).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 27,6 (CH_3 a); 55,9 (2 CH_3 j+k); 109,6 (CH f); 111,2 (CH i); 123,1 (CH k); 125,3 (CH c); 127,4 (C e); 143,6 (CH d); 149,1 (C g); 151,4 (C h); 198,2 (C b).

25) 4-(3,4-Diméthoxy-phényl)-butan-2-one 703

a) *Hydrogénation catalytique*

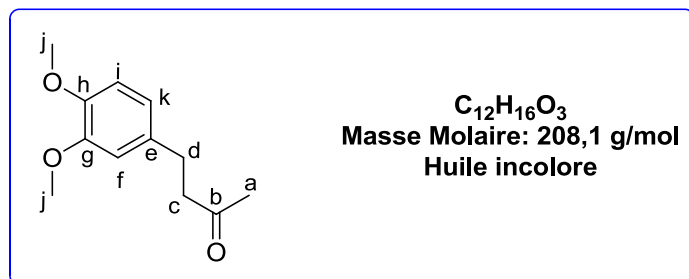
Dans un ballon de 100 mL, (2,165 g 5 mmol) de **617** sont dissout dans 30 mL d'acétate d'éthyle, puis ajouté 125 mg de palladium sur charbon activé 10%. Ce milieu réactionnel est tout d'abord purgé, sans agitation, à l'hydrogène, durant un quart d'heure, puis il est mis sous forte agitation durant trois quarts d'heure. Le brut réactionnel est alors filtré sur célite, puis l'acétate d'éthyle est évaporé au rotavapor, ainsi qu'à la pompe, conduisant à un mélange de 2,097 g de cétone **703**, et d'alcool **704** sous forme d'une huile incolore.

b) Oxydation de Jones

Dans un ballon de 100 mL, sont placés 2,097 g de mélange de cétone **703** et d'alcool **704** dans 35 ml d'acétone. A 0 °C et sous agitation magnétique, du réactif de Jones (CrO₃/H₂SO₄) 6N est ajouté par portions de 0.5 mL. On fait une plaque CCM après chaque ajout de réactif pour voir si l'alcool **704** a réagi puis l'acétone est distillée au rotavapor. Le brut est repris à l'acétate d'éthyle (35 mL), puis amené à pH neutre par lavages avec une

solution saturée de NaHCO_3 (3 x 10 mL) puis traité par de la saumure (10 mL), séché sur sulfate de sodium puis concentré sous vide partiel au rotavapor. Le produit attendu **703** est obtenu sous forme d'une huile incolore (1,763 g, Rdt 82 %).

4-(3,4-Diméthoxy-phényl)-butan-2-one 703

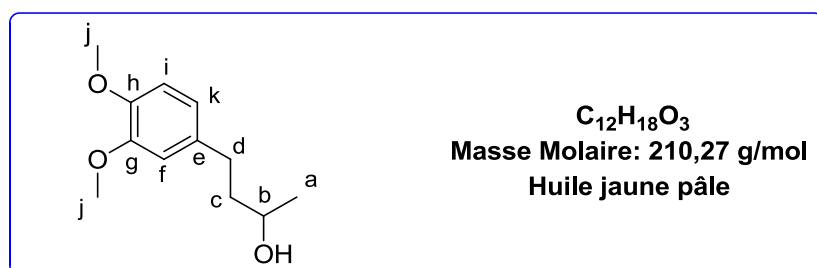


IR (film, cm^{-1}): 2835, 1715, 1515, 1255, 1233, 1156, 1138, 1026, 800, 765.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,79 (s, 3H a); 2,40 – 2,54 (m, 4H c+d); 3,94 (s, 3 H j), 3,53 (s, 3 H j); 6,40 - 6,50 (m, 3 H f+e+k).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 28,2 (CH_3 a); 28,6 (CH_2 d); 44,0 (CH_2 c); 54,6 (2 CH_3 j); 110,5 (CH i); 110,9 (CH f); 119,1 (CH k); 132,7 (C e); 146,4 (C g); 147,9 (C h); 206,3 (C b).

4-(3,4-Diméthoxyphényl)butan-2-ol 704



IR (film, cm^{-1}): 3494, 2999, 2936, 1712.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1,21 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H a); 1,64 (s, 1H OH); 1,69 - 1,77 (m, 4H c+d); 3,80 (s, 3H j); 3,83 (s, 3H j); 6,70 – 6,78 (m, 3H i+k+f).

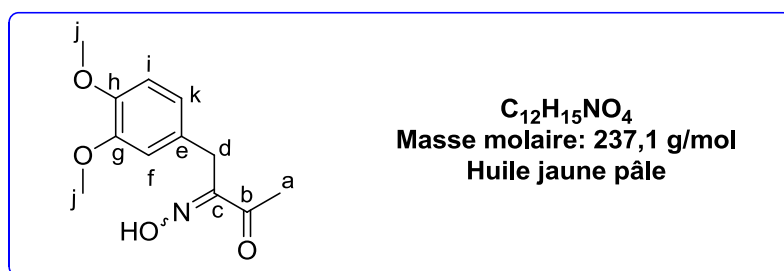
RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 23,8 (CH_3 a); 31,7 (CH_2 c); 41,2 (CH_2 d); 55,9 (2 CH_3 j); 111,4 (CH f); 111,9 (CH i); 120,3 (CH k); 67,7 (CH b); 134,7 (C e); 147,3 (C h); 148,9 (C g).

26) 4-(3,4-Diméthoxy-phényl)-butane-2,3-dione 2-oxime 699

Solution de 0,208 g (1 mmol) de **703** avec 2 mL de THF, est additionné 0,345 g de nitrite de sodium (5 mmol, soit 5 équiv). Le milieu réactionnel est alors porté à 0 °C, avant

d'ajouter 1,3 mL d'acide chlorhydrique concentré (40 mol %). La réaction laissée une demi-heure à 0 °C, puis portée à 20 °C et laisser 3 heures sous agitation. Extrait par 4 x 15 mL d'éther, en prenant soin de neutraliser le milieu acide avec la glace. Les phases organiques sont rassemblées, lavées à la saumure, séchées sur sulfate de magnésium, puis évaporées à l'aide du rota-vapor et de la pompe. Après une chromatographie sur gel de silice à l'aide d'un éluant de type cyclohexane / acétate d'éthyle (60/40), 0,145 g est obtenu sous forme d'une huile jaune pâle sont récupérées (Rdt 60 %).

4-(3,4-Diméthoxy-phényl)-butane-2,3-dione 2-oxime **699**



IR (film, cm⁻¹): 3386, 2935, 2855, 1691, 1514, 1259, 1233, 1154, 1026, 814.

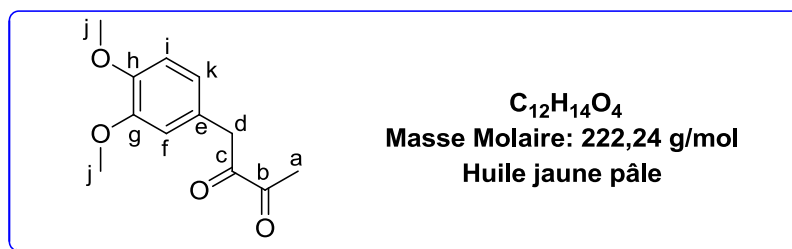
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 2,33 (s, 3H a); 3,69 (s, 2H d); 3,80 (s, 6 H j); 6,72 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H i); 6,79 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H f); 6,84 (dd, *J* = 8,1 et 1,9 Hz, 1H k).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 25,3 (CH₃ a); 27,3 (CH₂ d); 55,6 (2 CH₃ j); 111,1 (CH_f); 112,7 (CH i); 121,2 (CH k); 128,7 (C e); 147,3 (C g); 148,5 (C h); 158,1 (C c); 197 (C b).

27) 1-(3,4-Diméthoxyphényl)butane-2,3-dione 698

Dans un tube en verre de 50 mL contenant 27 mg (0,969 mmol) de l'oxime **699** dans 1,5 mL d'éthanol et 0,096 mL (1 équiv) de solution de formaldéhyde aqueux, est ajouté 0,01 mL (10 mol %) d'acide chlorhydrique concentré. Après chauffage micro-ondes pendant 25 min à 80 °C (60 W), le milieu est extrait 2 fois par 15 mL d'acétate d'éthyle, puis la phase organique est lavée jusqu'à pH neutre par une solution saturée de NaHCO₃ (3 x 3 mL) et par de la saumure, séchée sur sulfate de sodium, puis concentrée sous vide partiel au rotavapor. La purification sur colonne de gel de silice avec un éluant cyclohexane/acétate d'éthyle 80/20 puis 70/30 fournit 10 mg de produit attendu **689** sous forme d'une huile jaune pâle (Rdt 47%).

1-(3,4-Diméthoxyphényl)butane-2,3-dione **698**



IR (film, cm⁻¹): 3352, 2999, 2936, 1712.

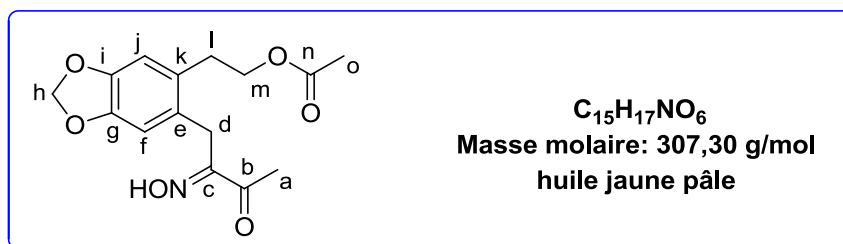
RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 2,17 (s, 3H a); 3,90 (s, 2 H d); 3,95 (s, 3 H j); 3,97 (s, 3 H j); 6,98 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H i); 7,26 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H f); 7,46 (dd, *J* = 8,1 et 1,84 Hz, 1 H k).

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) : 29,6 (CH₃ a); 27,3 (CH₂ d); 55,9 (CH₃ j); 56,1 (CH₃ j); 111,1 (CH f); 112,7 (CH i); 121,2 (CH k); 128,7 (C e); 147,3 (C g); 148,5(C h); 158,1 (C c); 190,8 (C b).

28) Acétate de 2-(6-(2-(Hydroxyimino)-3-oxobutyl)benzo[1,3]dioxol-5-yl)-éthyle 709

A 400 mg de cétone **81** (1,4 mmol) mise en solution dans 4 mL de THF sont ajoutés 0,5 g de nitrite de sodium (7,2 mmol, 5 équiv). Le milieu réactionnel est alors porté à 0 °C avant d'ajouter goutte à goutte 1,87 mL d'acide chlorhydrique concentré. La réaction est laissée sous agitation une demi-heure à 0 °C, puis on ôte la réaction de la glace pour la laisser 3h à température ambiante. Le milieu est extrait avec 50 mL de dichlorométhane en prenant soin de neutraliser le milieu acide avec du glace. La phase organique est ensuite lavée à la saumure (3 x 5 mL), séchée sur sulfate de magnésium, filtrée sur célite, puis concentrée à l'aide du rotavapor et de la pompe. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane: 10/90, 15/85 et 20/80), 30 mg d'une huile jaune pâle sont obtenus (Rdt 17%).

Acétate de 2-(6-(2-(hydroxyimino)-3-oxobutyl)benzo[1,3]dioxol-5-yl)-éthyle **709**



MHR : m/z calculé pour C₁₅H₁₇NO₆ Na [M+Na]⁺ 330,0954

expérimental

$[M+Na]^+$

330,0956

IR (film, cm^{-1}): 3352, 2900, 1730, 1715, 1227, 1028.

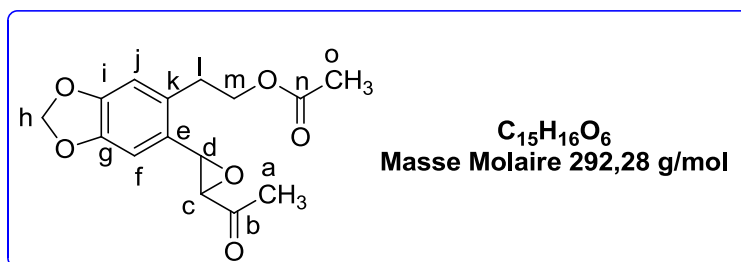
RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1,35 (s, 1H, OH); 1,99 (s, 3H o); 2,3 (s, 3H a); 2,9 (t, $J = 7,1$ 2H l); 3,78 (s, 2H d); 4,2 (t, $J = 7,1$ 2H m); 5,97 (s, 2H h); 7,2 (s, 1H j); 7,43 (s, 1H, f).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 21,01 (CH_3 , o); 24,97 (CH_2 , d); 25,51 (CH_3 , a); 32,12 (CH_2 , l); 64,64 (CH_2 , m); 100,9 (CH_2 , h); 109,19 (CH, j); 109,65 (CH, f); 127,67 (C, e); 129,19 (C, k); 146,19 (C, i); 146,46 (C, g); 159 (C, c); 171 (C, n); 207,5 (C, b).

30) Acétate de 2-(6-(3-Acétloxiran-2-yl)benzo[1,3]dioxol-5-yl)-éthyle 712

A 100 mg de **687** (0,36 mmol) mis en solution dans 1,5 mL de méthanol, sont ajoutés successivement 243 mg de tétrabutylammonium peroxydisulfate (0,36 mmol), 36 μL de H_2O_2 (0,36 mmol, 30% dans l'eau) et 14,4 mg de NaOH (0,36 mmol). Après agitation pendant une heure à température ambiante, on ajoute 30 mL de la solution saturée de NH_4Cl . La phase organique est extraite par le diéthyléther (3x30 mL). Les phases organiques rassemblées sont ensuite lavées à la saumure, séchées sur sulfate de magnésium, filtrées sur célite, puis évaporées à l'aide du rotavapor et de la pompe. Après une chromatographie sur gel de silice (acétate d'éthyle/cyclohexane : 20/80 et 30/70), on obtient 24 mg de produit **712** (Rendement 23%).

Acétate de 2-(6-(3-Acétloxiran-2-yl)benzo[1,3]dioxol-5-yl)-éthyle **712**



RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 1,97 (s, 3H o); 2,32 (s, 3H a); 2,95 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H l); 3,75 (d, $J = 2$ Hz 1H c); 4,12 (d, 1H $J = 2$ Hz, 1H d); 4,40 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H m); 5,92 (s, 2H h); 6,62-7,1 (m, 3H j+f).

RMN ^{13}C (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 20,8 (CH_3 , a); 27,6 (CH_3 , o); 32,3 (CH_2 , l); 58,3 (CH, d); 64,6 (CH_2 , m); 67,0 (CH, c); 101,5 (CH_2 , h); 105,7 (CH, f); 110,4 (CH, j); 127,0 (C, e); 132,9 (C, k); 147,2 (C, i); 149,7 (C, g); 170,9 (C, n); 198,3 (C, b).

Contribution à la synthèse totale de la céphalotaxine

Rana ALSALIM

◆ Depuis plus de 40 ans des chimistes se sont intéressés à l'extraction, à l'activité biologique et à la synthèse de l'homoharringtonine, un ester naturel de la céphalotaxine, qui est un puissant antileucémique, en vue de son utilisation thérapeutique, en particulier contre les leucémies résistantes aux inhibiteurs de tyrosine kinase. Ces alcaloïdes sont extraits de *Cephalotaxus*, des conifères originaires du sud de la Chine à croissance extrêmement lente et menacés d'extinction. L'objectif de ce travail a donc consisté à développer une synthèse concise de la céphalotaxine, afin de s'affranchir de la ressource végétale. La stratégie développée nécessite d'effectuer un couplage de Heck intermoléculaire avec des substrats doublement désactivés et encombrés. Les résultats préliminaires ayant été décevants, le premier objectif a consisté à développer l'utilisation du modèle des plans d'expériences en synthèse totale car la méthodologie classique de variation d'un seul paramètre à la fois dite de « un par un » a été inopérante. L'application d'un plan d'expériences factoriel complet a permis de pallier ce problème par une étude modèle, permettant de déterminer les paramètres optimisés pour effectuer la réaction de couplage efficacement. Nous avons ensuite synthétisé les précurseurs dérivés du safrol et de la 2,3-butanedione puis réalisé le couplage de Heck en vue de l'accès au précurseur AC comportant tous les atomes de carbone de la céphalotaxine et les fonctionnalités requises pour sa cyclisation ultérieure en fragment pyrrolobenzazépine ABC. L'alcool homopipéronylique o-iodé conduit dans certaines conditions à un isochromane par réaction tandem Heck-oxa-Michael. Enfin, nous avons fonctionnalisé les produits de Heck et d'hydro-arylation obtenus avec 69-70% de rendement en position C₃ par différentes méthodes permettant de valider notre stratégie de synthèse.

◆ Alcaloïdes, Céphalotaxine, activité antileucémique, synthèse totale, réaction de Heck, plan d'expérience, réaction tandem Heck/oxa-Michael, processus éco-compatible, eau, palladium.

◆ Chimie des Substances Naturelles, laboratoire BioCIS, UMR CNRS 8076.

PÔLE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

UFR «FACULTÉ DE PHARMACIE DE CHATENAY-MALABRY »

5, rue Jean Baptiste Clément

92296 CHÂTENAY-MALABRY Cedex